# MANUEL DE CULTURE ARTISANALE DE SPIRULINE

(Révision du 23 avril 2010)

(Détails sur les **DERNIERES REVISIONS**)

(Résumé en anglais : <u>ENGLISH</u> (Résumé en espagnol : <u>CASTELLANO</u>)

#### **SOMMAIRE**

# **PRESENTATION**

- 1) Qu'est-ce que la Spiruline ? SPIRULINE
- 2) Influence du CLIMAT
- 3) **BASSINS**
- 4) MILIEU de Culture
- 5) **ENSEMENCEMENT**
- 6) Nourriture minérale de la spiruline NOURRITURE
- 7) Conduite et entretien de la CULTURE
- 8) RECOLTE
- 9) **SECHAGE**
- 10) **CONSOMMATION**
- 11) **HYGIENE**
- 12) RECOMMANDATIONS

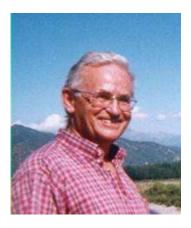
**ANNEXES** 

**CALCULS** 

**BIBLIOGRAPHIE** 

\*\*\*\*\*\*

#### **PRESENTATION**



J.P. Jourdan fait part ici de son expérience de près de vingt années de pratique de la culture de spiruline et montre aussi comment appliquer les méthodes du génie chimique pour perfectionner cette production même à petite échelle et sans moyen technique sophistiqué. Il donne une foule de détails permettant de construire l'installation de culture et de conduire sa marche dans des circonstances très variées, mais aussi d'évaluer et d'optimiser le prix de revient de cette micro-algue si demandée actuellement pour ses vertus alimentaires ou autres.

Diplomé du M.I.T., J.P. Jourdan a fait sa carrière dans l'industrie chimique avant de consacrer sa retraite dans le sud de la France au développement de la spiruline en faveur des enfants du Tiers-Monde. Après avoir été "élève ès spiruline" auprès de Ripley D. Fox et de Francisco Ayala, il est membre de Technap et il a collaboré activement avec Antenna Technologie et plusieurs autres O.N.G. dans le domaine de la spiruline.

#### LIMINAIRE

L'objectif de ce manuel est de former des formateurs pour diffuser et rendre accessible à un plus grand nombre la culture et la consommation de la spiruline, et aider les futurs "jardiniers" (jardiniers du futur ?) à contrôler un certain nombre de paramètres pour produire à l'échelle familiale, coopérative ou communautaire un aliment dont les qualités nutritionnelles sont aujourd'hui reconnues, mais qui leur reste pratiquement inaccessible, du moins à l'état frais. Il n'est pas de fournir les éléments nécessaires pour une exploitation répondant seulement à des critères de rentabilité commerciale, spécialement en pays à main-d'œuvre chère, car le procédé proposé est très gourmand en main-d'oeuvre du fait de son taux de mécanisation quasiment nul.

Nous pratiquons la culture de spiruline à petite échelle depuis 1991, dans le but de la mettre à la portée de ceux qui en ont vraiment besoin. Nous souhaitons que ce document, essentiellement basé sur notre expérience personnelle et celles de quelques collègues travaillant de manière similaire, puisse vous initier, guider vos premiers pas dans ce nouveau type de culture.

Nous vous conseillons de démarrer votre culture à petite échelle, pour vous faire la main, mieux appréhender des phénomènes naturels somme toute très simples, et manipuler des outils de travail qui vous seront d'autant plus familiers que vous les aurez faits vous-même.

Ajoutons que sans pouvoir garantir la qualité de la spiruline produite dans tel lieu, sous tel climat, dans telles conditions, nous pouvons affirmer n'avoir jamais eu connaissance d'un cas de toxicité d'une spiruline produite artisanalement sous les latitudes (entre 0 et 45°) où nous avons travaillé.

# 1) QU'EST- CE QUE LA SPIRULINE?



C'est un petit être aquatique (0,3 mm de long), vieux comme le monde dont le nom scientifique est "cyanobactérie *Arthrospira* platensis" (ne pas confondre avec la cyanobactérie marine dénommée scientifiquement "Spirulina subsalsa"), qui vit de photosynthèse comme les plantes et prospère naturellement dans les lacs salés et alcalins des régions chaudes du globe. Nourriture traditionnelle des Aztèques du Mexique et des Kanembous du Tchad, plus riche en protéines que la viande, la spiruline est maintenant cultivée dans de grandes usines aux U.S.A., en Inde, en Chine, en Thaïlande, etc., car on lui découvre toujours plus de qualités intéressantes pour l'alimentation et la santé, tant pour les hommes que pour les animaux. Par exemple un enfant souffrant de kwarshiorkor (malnutrition) peut être rétabli en lui donnant une cuillérée par jour de spiruline pendant un mois. La spiruline renforce les défenses immunitaires et allège les souffrances des personnes atteintes du Sida. Elle permet aux tuberculeux de mieux supporter leur traitement. La spiruline est aussi utilisée comme ingrédient actif en cosmétique.

Dans la nature, la spiruline n'a besoin pour "pousser" que d'une cuvette argileuse retenant une eau saumâtre et alcaline, sous un climat chaud, et de quelques

déjections animales. Les flamants roses de l'espèce "minor" (les plus nombreux) fournissent l'apport en déjections et l'agitation nécessaire pour assurer la croissance de la spiruline naturelle qui est leur aliment exclusif, notamment dans des lacs d'Afrique de l'Est (Rift Valley).

La spiruline se présente sous forme de filaments constitués de cellules juxtaposées. La reproduction de la spiruline, asexuée, se fait par division des filaments.

La culture industrielle de la spiruline est intensive et très technique. Son produit final, séché par atomisation, est inférieur en qualité au produit frais, et même au produit séché artisanalement, et ne plait pas à certains consommateurs qui lui trouvent une odeur forte. De plus il n'est pas à la portée des populations qui en ont le plus besoin.

Pour des détails sur les caractéristiques, les vertus, la fabrication industrielle et le marché de la spiruline, nous vous renvoyons aux ouvrages les plus récents disponibles sur ces sujets, dont le classique "Earth Food Spirulina" de Robert Henrikson, édité par Ronore aux U.S.A (1997) et ceux de Jacques Falquet : "Spiruline, Aspects Nutritionnels", Antenna Technologie, Genève (2006) <a href="http://www.antenna.ch/documents/AspNutr2006.pdf">http://www.antenna.ch/documents/AspNutr2006.pdf</a>, D. Fox : "Spiruline, Production & Potentiel", Editions Edisud (1999), sans oublier "Spirulina Platensis (Arthrospira), Physiology, Cell biology and Biotechnology", d'Avigad Vonshak, aux Editions Taylor & Francis (1997). "Earth Food Spirulina" est maintenant disponible sur <a href="http://www.spirulinasource.com/">http://www.spirulinasource.com/</a> avec mise à jour permanente. « Spirulina in Human Nutrition and Health », par M.E. Gershwin et Ahma Belay, CRC Press (2008) est particulièrement recommandé.

L'usine hawaïenne est décrite dans <a href="http://www.cyanotech.com/">http://www.cyanotech.com/</a>.

Voir aussi évidemment les publications d'Antenna Technologie sur <u>www.antenna.ch</u>.

# 2) INFLUENCE DU CLIMAT

Les deux paramètres fondamentaux qui contribuent à constituer le climat sont les températures et la pluviométrie. Il ne faut pour autant pas négliger les vents dominants, par exemple le mistral en vallée du Rhône, qui peuvent avoir des conséquences importantes sur l'évaporation d'un bassin de culture, sur la température de l'eau ou la "pollution" de ce bassin par tous les débris et les poussières qu'il peut entraîner.

De même certains éléments comme les haies, la présence de barres rocheuses, de forêts, etc. peuvent entraîner des conséquences importantes sur le microclimat, conséquences qu'il sera bon d'évaluer avant l'implantation d'un bassin... comme d'un jardin potager.

#### 2.1) Température

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l'homme, 37°C : température idéale pour pousser. Au-dessus, c'est trop chaud (43°C peut être mortel). En dessous, la vitesse de multiplication baisse avec la température. A 20°C la croissance est pratiquement stoppée. La température du milieu de culture doit donc se situer entre ces deux températures. Plus la "saison" est longue, plus la période de récolte est longue. Les climats continentaux ou d'altitude sont désavantagés.

Le handicap d'un climat trop froid peut être compensé artificiellement, comme pour tous les végétaux. La construction de bassins sous serre peut être d'autant plus intéressante que cet abri constitue non seulement une protection contre le froid, l'évaporation, les insectes et les poussières mais aussi contre les pluies diluviennes, comme les orages, qui peuvent faire déborder les bassins et donc provoquer une perte, ou au moins une dilution du milieu de culture.

#### 2.2) Pluviométrie

La conduite de bassins de culture nécessite un minimum de ressources en eau. Les eaux de pluie sont intéressantes car propres et neutres (pas de minéraux en solution). Sous les climats à faible pluviométrie, ou à saison sèche longue, il peut être nécessaire de prévoir une citerne pour stocker de l'eau de pluie et compenser ainsi l'évaporation des bassins. Là encore, il faut un "juste milieu". Les excès de précipitations devront être prévus en construisant des bassins plus profonds ou en les protégeant. Le manque d'eau est évidemment rédhibitoire. La carence en eau de pluie peut être compensée par l'utilisation d'eaux de provenances diverses, et plus ou moins "chargées" (rivière ou fleuve, nappe phréatique, eaux usées...). Il faudra alors tenir compte de la qualité de l'eau dans la mise au point, puis l'entretien du milieu de culture.

La présence d'une couverture translucide au-dessus des bassins pour éviter une dilution du milieu de culture est une bonne solution dans les régions à fortes précipitations (voir. § 3.2 couverture).

#### 2.3) Climat idéal

Il existe des climats idéaux où il ne fait jamais froid et où les pluies sont harmonieusement réparties et compensent l'évaporation, comme par exemple certains points du versant Est des Andes. Un autre type de climat idéal est le désert au pied de montagnes qui assurent un large approvisionnement en eau, comme par exemple le désert d'Atacama au Chili. L'eau consommée par un bassin sert surtout à maintenir la culture en dessous de 40°C, par évaporation. Dans un climat désertique sans eau la culture est impossible (sauf à importer de l'eau), alors que dans un climat frais la culture sous serre est facile avec une faible consommation d'eau.

#### 2.4) Saisonnalité (Voir Annexe A25 hivernage)

Dans les régions tempérées, l'hiver est généralement trop froid pour cultiver la spiruline, sauf avec chauffage et éclairage artificiels trop coûteux. Même dans des régions chaudes un arrêt annuel peut être rendu nécessaire par l'importance des pluies ou de la sécheresse ou par les vents de sable à certaine saison. La culture de spiruline sera donc souvent saisonnière.

Durant la mauvaise saison, une "souche" de spiruline devra impérativement être conservée dans son milieu de culture. Les contenants (bocaux, bonbonnes, bassines) devront laisser passer la lumière et être stockés dans un lieu clair mais à l'ombre, ou être sous éclairage électrique. Même si les cultures de spiruline survivent à des températures inférieures à 10°C, voire à de brèves gelées, il est prudent de ne pas les stocker au-dessous de 18°C pendant de longues périodes, car les risques de contamination augmentent.

Le fait que la spiruline prospère en milieu très alcalin présente deux avantages majeurs :

- meilleure absorption du gaz carbonique de l'air
- protection contre les contaminations.

Cette protection nous a été involontairement démontrée au printemps 1997. Nous avions côte à côte deux bassins de spiruline de 10 m², l'un à l'air libre, l'autre protégé de la pluie. Le bassin non protégé ayant débordé a été vidangé et s'est rempli d'eau de pluie, laquelle a été colonisée par des algues vertes unicellulaires (chlamydomonas) et nombre d'animaux (vers rouges, larves de moustiques, insectes nageurs). L'autre bassin a gardé ses spirulines sans contamination. Cependant il ne faut pas croire que seule la spiruline peut croître dans son milieu de culture : d'autres algues, des microorganismes et des animaux peuvent y vivre, d'où nécessité de surveiller les cultures du point de vue contaminants, surtout aux changement de saisons.

#### 3) BASSINS

Où implanter les bassins ? Il faut respecter quelques règles pas toujours évidentes : pas sous des arbres, ni en un lieu inondable, ni près d'une route ou d'une industrie (pollution). A l'abri des curieux, souvent ignorants et pas toujours bien intentionnés. Un terrain plat facilitera le travail, de même que la proximité de l'eau, etc. Il vaut la peine de réfléchir avant de décider.

# 3.1) Construction des bassins de culture

Pour une production familiale ou artisanale on peut se contenter de bassins de petite taille, sans agitation à roue à aube, sans chicane médiane. Il y a alors de nombreuses façons de construire un bassin adéquat, variables selon les conditions locales.

Le bassin ne doit pas comporter d'angles vifs, mais des formes arrondies (au moins aux extrêmités dans le cas de bassins rectangulaires). Le fond doit être aussi plan que possible, avec une très légère pente vers un endroit plus creux d'accès facile (pour faciliter la vidange). Les bords du bassin doivent être au-dessus du niveau du terrain, pour réduire l'entrée des

poussières et des animaux, et au moins 20 à 40 cm au-dessus du fond : mieux vaut prévoir une profondeur assez forte, pour encaisser les pluies, faciliter les transferts entre bassins et éventuellement l'autoépuration biologique du milieu de culture. Les bassins, surtout les plus profonds, doivent faire l'objet de précautions pour éviter l'accès des petits enfants. Il faut aussi faire en sorte qu'on ne puisse pas confondre les bassins avec un dépotoir, mésaventure qui est malheureusement arrivée dans plusieurs pays.

Une des plus grosses difficultés pour réussir un bassin est l'aplanissement du fond : en fait c'est là où réside surtout la limitation en surface pour un artisan ne disposant que d'outils ordinaires (pioche, rateau, règle et niveau à bulle). Pour les grands bassins les entreprises utilisent le laser qui facilitent bien le travail.

Une variante, qui ne sera pas décrite ici car assez peu adaptée aux conditions artisanales, consiste à faire la culture en lame d'eau coulant sur un plan incliné.

# 3.1.2) En bâches plastique

Une épaisseur de film de 0,25 mm minimum, et de préférence 0,5 mm, est recommandée. Le film (PVC, polyéthylène, EVA, tissu enduit PVC ou PP, caoutchouc EPDM), de qualité alimentaire (ou au moins non toxique) et résistant aux ultraviolets, peut être simplement fixé sur un cadre en bois ou en tubes d'acier ou de PVC, ou soutenu par un muret en planches, briques, parpaings (même non cimentés), terre crue stabilisée (pisé, "banco"). En fait la solution muret en dur ou au moins en bois est nécessaire en cas de risque d'attaque par des rongeurs. Eviter le plus possible les plis dans les angles donnant des zones qui ne seraient pas bien agitées ou aérées. Il est recommandé de cimenter le sol supportant le bassin ou de le couvrir d'une couche de gravier et sable ou latérite broyée bien damée. Si l'on doit utiliser du film plastique plus mince, le protéger du contact direct avec le sol et la maçonnerie, par exemple avec un feutre type "géotextile" ou deux ou trois couches de film usagé. Il existe un film PVC, de qualité alimentaire, de 1,2 mm d'épaisseur et 2 m de large pouvant être assemblé par soudure avec un pistolet à air chaud spécial (nécessite de l'électricité). Le film de caoutchouc EPDM, qui peut se coller, est une bonne solution mais de luxe. Les films épais et soudables ou collables réduisent les plis et facilitent l'installation d'une chicane centrale pouvant être simplement soudée ou collée au fond du bassin, mais ces films ont tendance à rester hors de portée des petits producteurs.

Pour la pose, tenir compte du fort coefficient de dilatation thermique des films plastique (en cas de pose par temps chaud, il y aura rétractation importante par temps froid, et vice-versa).

En cas d'utilisation d'un film de qualité inconnue, le faire analyser pour vérifier qu'il est alimentaire ou au moins non toxique, et faire un essai de culture pour vérifier qu'il n'est effectivement pas toxique et qu'il résiste au milieu de culture (voir <u>qualité</u>).

S'il y a des termites il est recommandé de mettre un lit de sable sur une couche de cendres sous le plastique et d'utiliser un muret en dur, ou au moins de traiter le bois, à moins que l'on ne dispose d'un bois naturellement inattaquable ; on peut aussi poser le film sur une dalle d'argile séchée ou mieux de ciment, ou le protéger par du métal. A noter que le chiendent africain est capable de percer le plastique. Il arrive que le plastique ne fuie pas même s'il est percé d'un petit trou, qui se bouche spontanément.

Il est possible de réparer un petit trou avec un mastic noir collant (à sec) vendu dans le commerce à cet effet, ou même avec une "rustine" de ruban adhésif résistant à l'eau.

Les rongeurs peuvent être de redoutables dangers pour les bassins en film plastique non protégé. Pendant des années je n'ai pas eu ce problème à Mialet, puis dans l'hiver 2000-2001 (très doux) 4 bassins ont été percés de multiples trous sur les bords non protégés. Il existe des appareils électriques repoussant efficacement les rongeurs.

Pour vidanger et nettoyer un bassin constitué d'une bache plastique supportée par un muret en dur, un moyen facile est d'abaisser le bord de la bâche près du point de vidange (puisard).

Photo d'un des premiers bassins (en tissu polyamide enduit PVC) de l'Ecopark, Madurai, Tamil Nadu (Inde), 18 m², 1998 :



# 3.1.3) En "dur" (béton, parpaings, briques)

Le fond d'un bassin en ciment doit être construit sous forme d'une dalle en béton armé de 10 cm d'épaisseur minimum, de très bonne qualité, sur terrain bien compacté. Les bords du bassin peuvent être en briques, en parpaings ou en béton armé. Eviter les angles vifs. Soigner l'enduit d'étanchéité (un adjuvant imperméabilisant ou une peinture epoxy sont pratiquement indispensable, ou sinon peindre l'enduit ciment à la chaux – dans ce cas laisser en place la chaux avant mise en eau). Il est bon d'attendre quelques jours, bassin plein d'eau, avant d'ensemencer en spirulines (sinon l'alcalinité de la chaux ou du ciment frais peut jaunir très rapidement les spirulines). Il existe des techniques pour construire des bassins de grande longueur (50 à 100 m) sans joint de dilatation. Le mariage béton-film plastique est aussi une solution, soit que le film double le béton pour l'étanchéiser, soit qu'une partie du bassin soit en film plastique et l'autre en béton (avec raccordement béton-film comme l'a pratiqué avec succès Bionor au Chili). Les fentes du béton peuvent se réparer au mastic silicone.

#### Photos:

• Chez les Pères Camiliens à Davougon (Bénin), 8 m², 1994 :



• Dans un village près de Maduraï, Tamil Nadu (Inde), 1 m², 1996 :



# 3.1.4) En argile (si on n'a vraiment pas d'autre possibilité)

Creuser sur 20 cm et faire un talus bien tassé de 20 cm également. Si le terrain n'est pas naturellement argileux, garnir la surface d'une couche d'argile humide de bonne qualité, de 3 à 5 cm d'épaisseur, bien tassée pour éviter les fissures. Garnir les rebords de tuiles ou briques cuites, ou de plastique pour éviter les fissurations lors des baisses de niveau. La spiruline pousse très bien dans un bassin en argile, mais sa pureté bactériologique doit être surveillée de plus près (risques accrus de présence de microorganismes anaérobies au fond). L'étanchéité n'est pas complète, mais elle peut être améliorée avec un film plastique même très mince.

# 3.2) Couverture du bassin de culture

En l'absence de toute protection sur le bassin, une bonne agitation est recommandée ; une bonne disponibilité d'eau (pour compenser l'évaporation), l'absence de pluies diluviennes (pluies de plus de 200 mm/jour) et de basses températures sont par ailleurs nécessaires.

Il est en fait souvent utile, voire nécessaire, d'installer une serre ou au moins un toit sur le bassin, permettant de le protéger contre les excès de pluie, de soleil ou de froid, et contre les chutes de feuilles, fientes d'oiseaux, vents de sable et débris divers, tout en lui permettant de "respirer". Le toit peut être en toile de tente blanche ou en tissu polyamide enduit PVC blanc laissant passer une partie de la lumière mais capable d'arrêter suffisamment la pluie. Il peut aussi être en plastique translucide : film de polyéthylène traité anti-U.V. utilisé pour la construction des serres horticoles, ou plaques en polycarbonate ou fibre de verre-polyester gel-coatée (pour éviter que les fibres sortent). Si le toit est opaque, il faut le mettre suffisamment haut pour que le bassin reçoive assez de lumière par les bords. Le toit est parfois complété par une moustiquaire sur les bords et/ou les côtés. Si la pluie est tolérable, le toit peut être remplacé par un simple ombrage (filet ombrière, canisse, feuilles de palmier tressées). Le toit peut être flottant si le bassin est trop large pour qu'on puisse construire une structure fixe pour le supporter.

Installer une serre consiste à recouvrir le bassin d'un film translucide avec une pente et une tension ou des supports suffisants pour éviter la formation de poches d'eau de pluie et résister aux tempêtes. Le film peut être supporté par des montants rigides ou des fils de fer ou du grillage (par-dessous et aussi parfois par-dessus). Des orifices d'aération et/ou d'accès doivent être prévus et munis de moustiquaires. Il est généralement nécessaire de prévoir aussi un dispositif d'ombrage (filet ombrière en plastique tissé noir par exemple, de préférence par dessus le plastique translucide pour le protéger). Le bois non traité et l'acier galvanisé sont des matériaux convenables pour les structures de serre. Eviter les vis cadmiées (à reflets jaunes). Eviter aussi toute peinture qui ne résisterait pas bien au milieu de culture (la peinture époxy convient). Proscrire les peintures anti-rouille à base de minium (plomb). Poser et tendre le film par temps chaud pour éviter qu'il ne se détende par temps chaud. A noter que certains bois sont attaqués par le milieu de culture, et que certains pays interdisent l'emploi du bois dans l'industrie ou l'artisanat alimentaire.

Un mode de réalisation économique d'un bassin sous serre consiste à faire un muret en éléments rigides (parpaings ou briques cimentés ou non, planches vissées sur des piquets en acier, bottes de paille), à poser le film d'étanchéité en recouvrant le muret et en l'enterrant sur les bords puis à tendre par-dessus un film de serre lui-même enterré sur les bords. Une légère pente (4 %) du film de serre suffit pour que même par pluies très violentes l'eau ruisselle sur le film sans s'y accumuler, à la condition expresse que le film soit tendu (à chaud) comme une peau de tambour ou un tissu de parapluie ; la pente peut être fournie par des poutres ou chevrons en bois formant comme une charpente basse sur le bassin, si le bois est autorisé. N.B. : avec une faible pente, il est probable que la serre ne résistera pas à une chute de neige ou de grêle importante. Pour accéder à un tel bassin et l'aérer il est nécessaire d'installer en au moins un point (mais de préférence deux) une "porte" d'accès, simple cadre vertical sur lequel repose le bord du film qui reste non enterré à cet endroit ; la porte peut être fermée par une moustiquaire (non seulement contre les insectes mais aussi les feuilles mortes). Prévoir la construction pour que la composante horizontale de la tension du film ne fasse pas basculer le muret.

Le mode de réalisation le plus économique d'un bassin sous serre utilise le même film (film de serre) pour le fond, les côtés et la couverture. Avec un film de serre de largeur standard (6,5

m) on réalise facilement des bassins jusqu'à 30 m². Le faîte peut être un chevron en bois de 6 x 8 cm, de 5 m de long fixé à environ 1,5 m de haut. Le film est agrafé sur le faîte d'un côté, puis de l'autre avant d'être fixé par liteaux sur le faîte. Aux deux extrémités on place un rebord en planches ou parpaings sur lequel est relevé et fixé solidement le bord du film, et on aménage deux "portes" d'accès à munir de moustiquaires. Le coût des matériaux s'élève à 5 \$/m² si la sous-couche de protection est réalisée en film plastique de récupération (usagé), hors ombrage, protection latérale et agitation. Une protection latérale est en fait recommandée contre les dommages causés notamment par les animaux : la placer à au moins 50 cm des bords si elle est en matériau brut pouvant endommager le film lors de ses déplacements par grand vent. Pour assurer la stabilité par grand vent, remplir le bassin d'au moins 20 cm. Il est recommandé de ne pas laisser les côtés du bassin exposés à la lumière car cela pourrait favoriser le développement d'algues étrangères sur les parois éclairées. Ce type de serre permet la récupération automatique de l'eau condensée sur le film de serre (important surtout la nuit dans les climats désertiques). Exemple de réalisation en 20m² (à Mialet, en 2000) :



L'utilisation de film de serre pose le problème de sa qualité du point de vue alimentaire. Il ne semble pas qu'il y ait de problème. Certains films (ceux qui sont légèrement jaunes) sont stabilisés contre les UV par un composé à base de cadmium. D'après nos analyses le cadmium ne migre pas du plastique vers le milieu de culture et ne pollue pas la spiruline.

Un bassin sous serre suffisamment étanche présente l'avantage de pouvoir être alimenté en gaz carbonique provenant de la combustion de gaz ou d'une fermentation (compost) grâce à son atmosphère contrôlable.

Une serre ombrable et aérable est idéale en tous climats car elle permet un contrôle maximum tant de la température, de la lumière, de la pluie et de l'évaporation que des insectes et autres animaux, poussières, feuilles mortes ; elle est la protection la plus efficace pour réduire le plus possible la consommation d'eau en climat aride.

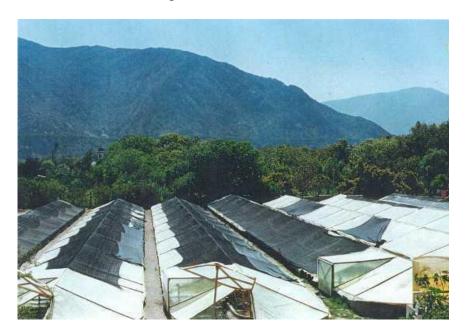
Sous serre il n'y a en général pas implantation de larves dans les cultures. En cas d'infestation il est facile de laisser monter la température à 42-43°C le temps de tuer les larves.

#### Photos:

• Bassins de 50 m² sous serre chez José Vitart, Mialet, 1998 :



• Bionor, près de La Serena, Valle de Elqui (Chili), 1997 :



#### 3.3) Nombre et surface de bassins

Mieux vaut construire deux ou plusieurs petits bassins qu'un seul grand : ainsi on pourra en vider un (pour le nettoyer ou le réparer par exemple) sans perdre son contenu, et si une des cultures se contamine, n'est pas en bonne santé ou meurt, l'autre permettra de continuer et de réensemencer. Il peut être aussi pratique de puiser dans un bassin pour filtrer sur un autre. Un bassin de service est par ailleurs utile pour préparer les milieux de culture et effectuer des transvasements, ou pour évaporer des purges en vue de recycler les sels, ou encore pour épurer du milieu de culture, mais il n'est pas absolument nécessaire.

Un m² de bassin couvre le besoin en spiruline d'une à 5 personnes selon la dose. Le coût d'investissement au m² décroît quand augmentent la surface unitaire et le rapport surface/périmètre des bassins. Par contre des bassins étroits (largeur inférieure à 3 m) sont plus faciles à agiter et à couvrir. Une surface unitaire de 5 à 20 m² parait pratique au niveau familial ou pour un dispensaire (selon la dose journalière de spiruline, et selon la productivité

des bassins). Pour une production artisanale la surface totale des bassins ne dépassera guère 50 à 100 m², mais un niveau "semi-artisanal" est envisageable, pouvant dépasser 1000 m² (Annexe 28).

# 3.4) Agitation du bassin

L'agitation est nécessaire pour homogénéiser, favoriser l'élimination de l'oxygène et assurer une bonne répartition de l'éclairage parmi toutes les spirulines. Sauf en cas de soleil très fort, on peut à la rigueur se contenter d'agitations discontinues, plus ou moins fréquentes (quelques minutes toutes les heures, au moins 4 fois par jour), manuelles avec un balai ou une rame, ou par pompes n'endommageant pas les spirulines (pompes à hélice, vis, palettes, diaphragme ou vortex). Une pompe d'aquarium à entrainement magnétique de 800 l/h, 8 Watt, fonctionnant 15 minutes par heure ou par demi-heure (programmateur à horloge), suffit pour agiter 5 à 10 m² de bassin si elle est bien positionnée (orientation de son jet en site et en azimuth) et si les bords du bassin sont réguliers et ses angles arrondis. Une chicane médiane peut faciliter la circulation, mais il faut en général la compléter par des chicanes d'angles redirigeant les flux des bords vers le centre, ce qui complique l'installation : dans un petit bassin de dimensions bien choisies la chicane centrale est totalement inutile. L'installation d'une chicane médiane dans les bassins en bâche plastique (recouvrant la chicane) pose le problème des plis qu'il faut éviter au maximum. Ce problème est minimisé si la chicane est de faible hauteur (20 cm) et ses extrêmités arrondies. Mais certains préfèrent des chicanes fixées sur des plaques de marbre ou granit posées sur la bâche; dans ce cas il faut veiller à minimiser le by-pass sous la chicane. Un autre mode de réalisation de la chicane consiste à souder une bande de bâche sur le fond, et à la soutenir par des ficelles aux structures de la serre. On améliore l'efficacité des pompes en faisant passer leur jet dans un tube « Venturi », mais cela complique l'installation et n'est recommandé qu'en cas d'alimentation photovoltaïque

Nettoyer de temps en temps les crépines des pompes et les recoins du corps des pompes (je préfère enlever le capot qui ne sert qu'à enjoliver les pompes d'aquarium). Avec les souches « ondulées» (Paracas) les pompes vide-cave ordinaires sont utilisables sans risque de casser les filaments ; une telle pompe peut agiter un bassin carré ou rond de 50 m²; mais ces pompes ne sont pas à entrainement magnétique et comportent donc un joint, ce qui peut provoquer des problèmes d'étanchéité et de corrosion au bout d'un certain temps). Attention : les pompes en 220 Volt nécessitent des précautions pour éviter de s'électrocuter, surtout en serre humide (les constructeurs de pompes d'aquarium demandent qu'on débranche avant de toucher l'eau) ; il est recommandé de brancher le système d'alimentation électrique sur un transformateur "à écran d'isolement" relié à la terre (système utilisé pour les prises de rasoirs dans les salles de bains) ; on peut compléter la sécurité par un disjoncteur différentiel de 30 mV. Des pompes en 12 ou 24 Volts sont préférables..

Mieux vaut une agitation discontinue énergique que continue mais faible. Même une agitation énergique sera plus efficace si elle est intermittente car à chaque redémarrage il se produit un brassage, alors qu'en continu la masse d'eau a tendance à se déplacer d'un bloc (sauf si des chicanes sont installées en travers du courant). C'est une bonne pratique d'agiter au balai le bassin au moins une fois par jour, surtout s'il est assez profond.

Les grands bassins industriels, très longs, sont toujours munis d'une chicane médiane et agités par roue à aubes. Leur surface unitaire maximum est de 5000 m². La technique de construction des roues à aubes mériterait un chapitre spécial mais ne sera pas traitée ici, mais seulement brièvement abordée en Annexe 24.

Les cultures en lame d'eau sur plan incliné (voir. § 3.1) sont agitées par la turbulence due à l'écoulement.

Un autre mode d'agitation: la cloche à air comprimé s'applique bien aux petits bassins assez profonds, de préférence ronds. Il consiste à faire arriver un débit d'air comprimé (d'un compresseur d'aquarium) sous une cloche lourde posée au fond du bassin (un plat en Pyrex fait bien l'affaire): la cloche se soulève d'un côté, à intervalles réguliers, en produisant une grosse bulle d'air; en retombant la cloche provoque un certaine circulation du liquide. Sur un bassin rond de 7 m² équipé ainsi avec un compresseur de 300 l/h en marche continue, l'agitation s'est révélée bonne. Un avantage important de ce mode d'agitation est l'absence de fils électriques. Dans la pratique ce mode d'agitation est limité aux bassines ou petits bassins mais peut rendre de vrais services.

Il est nécessaire d'insister sur le fait que le milieu de culture est très corrosif pour les métaux. Pratiquement seul l'acier galvanisé et l'inox type 304 résistent assez bien.

# 3.5) Containers, bassines, gaines

Il arrive que l'on utilise comme petits bassins des récipients translucides comme des bouteilles, bonbonnes, bassines, gaines en film plastique, containers à jus de fruits (il en existe de 1000 litres). Il faut savoir que la vitesse de photosynthèse paraîtra plus rapide dans de tels récipients parce que le milieu de culture y reçoit la lumière de plusieurs côtés et s'échauffe aussi plus vite. Cela peut être avantageux, mais il faut surveiller la température et le pH de plus près que dans les bassins ordinaires. L'agitation dans de tels récipients se fait de préférence par air comprimé (compresseur d'aquarium).

N.B. Il s'agit là en fait de variantes de "photobioréacteurs" à grand rapport surface/volume.

# 3.6) Réparation des films plastique

Il est possible de réparer de petits trous dans les films : nettoyer et sécher une zône autour du trou puis y coller un produit mou et collant (de qualité alimentaire) vendu à cet effet, ressemblant à du chewing gum. Le PVC peut aussi être réparé par rustines collées ou soudées, ou par une bande adhésive résistant à l'eau. Certaines bandes adhésives s'appliquent aussi aux films de polyéthylène. Attention : utiliser des produits de qualité alimentaire.

#### 4) MILIEU DE CULTURE

[N.B. Un logiciel existe pour faciliter les calculs de milieux et de nourriture ; voir en fin de ce chapitre]

# 4.1) Préparation du milieu de culture

Les spirulines vivent dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable (mais ne sentant pas fortement le chlore) ou au moins filtrée (sur bougie filtrante ou sable), le plus important étant l'élimination des algues étrangères. L'eau de pluie, de source ou de forage est en général de qualité convenable. Si l'eau est dure, il se produira des boues minérales (plus ou moins abondantes selon la teneur en calcium, magnésium et fer), qui décantent rapidement et

ne sont pas particulièrement gênantes pour la culture, à condition toutefois que l'ensemencement initial en spirulines soit assez concentré.

Les limites de salinité et d'alcalinité (= basicité, les deux termes sont interchangeables) permises sont assez larges mais on se place en général vers les minima, pour des raisons d'économie (sauf si la source d'alcali est très bon marché), avec une salinité totale de 13 g/litre et une alcalinité de 0,1 molécule-gramme/litre (b = 0,1); mais ces concentrations peuvent être doublées sans inconvénient. Il peut même être avantageux de travailler à une alcalinité double pour atténuer les fluctuations de pH dans l'après-midi, surtout en surface ou dans les angles du bassin quand l'agitation est déficiente. Un cas où b = 0,2 est préféré est celui du bassin ouvert démarré en saison sèche : la dilution par la pluie pourra ramener b vers 0,1 ou même en dessous pendant la saison des pluies.

L'alcalinité est habituellement apportée par du bicarbonate de sodium, mais ce dernier peut être remplacé en partie par de la soude caustique ou du carbonate de sodium qui ont d'ailleurs l'avantage de relever le pH initial du milieu de culture (par exemple 5 g/l de bicarbonate de sodium + 1,6 g/l de soude donnent un pH de 10); le carbonate ou la soude peuvent même être la seule source d'alcalinité à condition de les bicarbonater au gaz carbonique ou par exposition à l'air avant usage. Le natron ou trona peuvent aussi être utilisés (voir natron). La salinité complémentaire est apportée par les différents engrais et du sel (chlorure de sodium). Le sel de cuisine iodé et fluoré peut convenir mais souvent il contient jusqu'à 2 % de magnésie insoluble : mieux vaut utiliser un sel n'en contenant pas, pour éviter un excès de boues minérales. De même si le sel apporte trop de magnésium soluble, il y aura formation de sels minéraux insolubles, surtout à pH assez élevé ; des boues minérales excessives peuvent être très gênantes pour une culture qu'on ensemence peu concentrée en spiruline : celle-ci est en effet facilement entraînée par les flocons de boues au fond du bassin sans qu'on puisse la récupérer. C'est aussi une raison qui milite pour ne pas ajouter de calcium en début de culture nouvelle. Par contre l'emploi d'un sel peu raffiné est recommandé à cause de sa teneur en oligo-éléments bénéfiques.

En plus du sel et de la soude, le milieu de culture contient des engrais pour assurer la croissance des spirulines, comme en agriculture habituelle : azote (N), phosphore (P), potassium (K) sont les trois principaux éléments, mais soufre (S), magnésium (Mg), calcium (Ca) et fer (Fe) doivent aussi être ajoutés s'ils ne sont pas apportés en quantité suffisante par l'eau, le sel et les engrais. Une analyse de l'eau et du sel est utile pour calculer la dose de Mg, Ca et Fe à ajouter car un excès de ces éléments peut être nocif (perte de phosphore soluble, formation de boues). L'eau, le sel et les engrais apportent souvent assez d'oligo-éléments (bore, zinc, cobalt, molybdène, cuivre, etc.), mais comme ceux-ci sont coûteux à analyser, on préfère, quand on le peut, ajouter systématiquement les oligo-éléments, au moins les principaux.

Les sources d'azote préférées des spirulines sont l'ammoniac et l'urée, mais ces produits sont toxiques au-delà d'une concentration limite (l'urée s'hydrolyse peu à peu en ammoniac). C'est pourquoi on préfère souvent, au moins lors de la préparation du milieu de culture, utiliser du nitrate, dont on peut mettre sans danger une forte dose, constituant ainsi une réserve d'azote à long terme. Les spirulines consommeront d'abord l'ammoniac ou l'urée s'il y en a de disponibles. Une légère odeur passagère d'ammoniac révèle qu'on s'approche de la limite autorisée ; une odeur persistante et forte indique qu'on l'a sûrement dépassée et qu'il faut s'attendre à un mauvais état de la culture (passager ou irréversible selon la dose d'ammoniac).

Il arrive que la spiruline nourrie à l'urée perde la capacité de consommer le nitrate. Si on utilise une telle souche, il faudra donc démarrer la culture à l'urée mais sans dépasser les doses permises, c'est-à-dire qu'il faudra la mettre à petites doses fréquentes (en se guidant sur l'augmentation de la quantité de spiruline dans le bassin : mettre 0,3 grammes d'urée par gramme de spiruline produite).

Note: L'urée est le nom commun du carbamide ; certaines personnes confondant urée et urine, et pouvant éprouver une certaine répugnance à manger de la spiruline fabriquée avec de "l'urée", il peut être préférable, pour elles, de remplacer le terme "urée" par son synonyme scientifique : "carbamide",

tout aussi correct mais moins évocateur. Cependant l'urée est un produit très propre et inodore, très employé en agriculture, et très généralement disponible dans le Tiers-Monde.

Le nitrate n'est pas réellement sans risque car il peut se transformer spontanément en ammoniac dans certaines conditions (en présence de sucre par exemple et sans doute d'exopolysaccharides sécrétés par la spiruline elle-même). Vice-versa l'ammoniac (issu de l'urée par exemple) s'oxyde plus ou moins vite en nitrate par le phénomène naturel connu sous le nom de nitrification.

Le phosphore est apporté indifféremment par n'importe quel orthophosphate soluble, par exemple le phosphate monoammonique (NH4H2PO4), le phosphate dipotassique (K2HPO4) ou le phosphate trisodique (Na3PO4, 12 H2O), ou encore l'acide phosphorique lui-même. De même le potassium peut être apporté indifféremment par le nitrate de potassium, le chlorure de potassium, le sulfate ou le phosphate dipotassiques. La source de magnésium habituelle est le sulfate de magnésium appelé sel d'Epsom (MgSO4, 7 H2O). Le calcium éventuellement nécessaire est apporté par un peu de chaux éteinte ou de plâtre (sulfate de calcium), ou, mieux, d'un sel de calcium soluble (nitrate, chlorure); il faut en mettre de quoi saturer le milieu en calcium à pH voisin de 10, mais pas plus, c'est-à-dire jusqu'à formation d'un léger louche blanc. En cas d'ensemencement d'une nouvelle culture avec peu de spiruline, mieux vaut s'abstenir d'ajouter du calcium au début pour éviter de perdre de la semence entraînée dans les boues minérales.

[Remarque: L'ajout de petites quantités de produits acides (acide phosphorique par exemple) dans un milieu contenant du bicarbonate de sodium et du carbonate de sodium ne réduit pas son alcalinité mais abaisse son pH, c'est-à-dire transforme une partie du carbonate en bicarbonate de sodium sans perte de CO2. Ceci s'applique aussi bien aux ajouts lors de la préparation de milieu de culture que lors de l'ajout de nourriture à une culture. Mais si l'on prépare un mélange où l'apport d'acide est important il y aura perte d'alcalinité et de CO2, ce qui est dommage. Donc mettre l'acide directement dans le bassin.]

On notera la possibilité d'apporter plusieurs éléments à la fois par le même produit, par exemple N et K par le nitrate de potasse, P et K par le phosphate dipotassique, ou S et Mg par le sulfate de magnésium.

On voit l'importance de posséder des rudiments de chimie pour pouvoir jongler entre les différents produits selon leur disponibilité et leur prix. Il suffit en gros de connaître les poids moléculaires et de faire des règles de trois. On peut aussi se passer du concept de poids moléculaire et ne travailler qu'avec les % d'éléments donnés en <u>Annexe A16</u>.

Le fer est apporté par une solution de sulfate de fer acidulée, de préférence à l'acide citrique, ou par du fer associé à un <u>chélatant</u> comme il s'en vend couramment pour les usages horticoles.

Ne pas utiliser les engrais agricoles ordinaires prévus pour être peu solubles (et contenant de nombreuses impuretés), mais seulement les engrais solubles (voir § 6.1, N.B. e et f granulés) ou les produits chimiques purs correspondants. En cas de doute, analyser la spiruline produite pour vérifier qu'elle ne contient pas trop de mercure, plomb, cadmium, ou arsenic).

Les limites de concentration admissibles pour les différents éléments dans le milieu de culture sont données en <u>Annexe 18</u>. Voici un exemple d'analyse de milieu de culture typique d'un bassin en cours de production :

Carbonate = 2800 mg/l Bicarbonate = 720 mg/l Nitrate = 614 mg/l Phosphate = 25 mg/l Sulfate = 350 mg/l Chlorure = 3030 mg/l

```
Sodium = 4380 mg/l

Potassium = 642 mg/l

Magnesium = 10 mg/l

Calcium = 5 mg/l

Ammonium + ammoniac = 5 mg/l

Fer = 1 mg/l
```

```
Salinité totale = 12797 \text{ mg/l}
Densité à 20^{\circ}\text{C} = 1010 \text{ g/l}
Alcalinité = 0,105 \text{ N} (molécule-gramme/l)
pH à 20^{\circ}\text{C} = 10,4
```

Le milieu doit contenir en plus tous les oligoéléments nécessaires, apportés généralement par l'eau et par les impuretés des sels, mais dont il est prudent, quand on le peut, d'ajouter un complément, au moins en ce qui concerne le zinc (voir <u>Annexe 26</u>). Un peu d'argile peut être un complément utile.

Voici une formule pour milieu de culture neuf (pH proche de 8, voir § 4.7: <u>ph</u>) convenant pour des eaux de dureté nulle ou faible :

```
Bicarbonate de sodium = 8 g/l
Chlorure de sodium = 5 g/l
Nitrate de potassium = 2 g/l (optionnel)
Sulfate dipotassique = 1 g/l (optionnel ; 0,1 minimum)
Phosphate monoammonique = 0,2 g/l
Sulfate de magnésium MgSO4, 7H2O = 0,2 g/l
Chlorure de calcium = 0,1 g/l (ou Chaux = 0,07 g/l)
Urée = 0,009 g/l (ou 0,034 g/l pour extension de culture, par exemple bassin à géométrie variable, voir Géométrie) ; optionnel s'il y a du nitrate
Solution à 10 g de fer/litre = 0,1 ml/l
Solution d'oligoéléments (selon Annexe 26.2) = 0,05 ml/l
```

Le fer peut être apporté sous la forme chélatée par 0,008 g de Fétrilon 13 ou de Ferfol 13, ou par 0,005 g de sulfate de fer FeSO4,7H2O par litre de milieu. Si le phosphore est apporté par l'acide phosphorique ou un phosphate sans ammonium, l'urée passe à 0,035 g/l (ou 0,070 g/l en cas d'extension de bassin).

Le nitrate de potassium n'est en fait pas nécessaire, mais il facilite le travail en assurant une réserve d'azote et de potassium. Inversement, si on met du nitrate on peut omettre l'urée. Si on omet le nitrate, le potassium est apporté par le sulfate dipotassique. Si l'eau est assez riche en sulfates, le sulfate dipotassique peut être réduit à 0,1 g/l et si de plus l'on met du nitrate de potassium il peut même être omis.

La dose totale de chlorure de sodium + nitrate de potassium + sulfate de potassium dépend de l'alcalinité b; elle doit être environ égale à : 12 - (40 x b), en g/l, avec un minimum de 4 g/l.

L'alcalinité de 0,1 peut être apportée par 5 g/l de carbonate de sodium ou par 4 g/l de soude, que l'on doit laisser se carbonater avant usage (environ 15 jours à l'air en couche de 15 cm); on peut aussi mélanger le bicarbonate de sodium avec le carbonate de sodium

ou la soude caustique (voir <u>Annexe 12</u> et A13 <u>Annexe 13</u>). Retenons qu'un mélange 50/50 de carbonate et de bicarbonate de sodium donne un pH voisin de 10 qui, à la dose de 7 g/l correspondant à une alcalinité de 0,1, convient très bien au démarrage d'une nouvelle culture. Le sesquicarbonate de sodium Na2CO3.NaHCO3.2H2O, produit naturel appelé "trona" aux U.S.A., peut être utilisé à 8 g/l et donne un pH de 10,15 convenant bien aussi (voir § 4.7: <u>ph</u>). Le natron africain est un trona impur dont l'utilisation tel quel n'est pas toujours recommandée. Les meilleurs natrons sont en général les moins colorés. Avant d'utiliser un natron il faut le tester : vérifier qu'une solution à 20 g/litre filtre bien (sur

papier filtre à café) et n'est pas trop colorée ni trouble ; doser l'alcalinité et les sulfates. On trouve souvent jusqu'à 30 % d'insolubles (sable) et seulement 30 % de carbonate/bicarbonate. Le sable est facile à éliminer par décantation.

Le nitrate du Chili potassique ("salitre potásico", granulés colorés en rose par de l'oxyde de fer), produit naturel, peut remplacer avantageusement le nitrate de potassium en apportant une riche dose d'oligoéléments, ainsi que du soufre et du magnésium (voir <u>analyse</u> en Annexe A16.1). Le Chili exporte aussi du nitrate de potassium purifié et du nitrate de sodium.

Lorsque le milieu contient simultanément les ions ammonium (NH4), magnésium (Mg) et phosphate (PO4), les concentrations de ces ions sont parfois (selon les concentrations et le pH) interdépendantes parce que la solubilité du phosphate mixte d'ammonium et de magnésium est extrêmement faible. Le phosphate mixte insolubilisé reste tout de même disponible pour la spiruline puisqu'il se redissout dès que les conditions le lui permettent, mais s'il y a déséquilibre les concentrations d'un ou deux des trois ions impliqués peuvent être très faibles, ce qui ralentit la croissance et peut même faire mourir la culture (aussi bien par manque de magnésium que de phosphate). Les cristaux de phosphate mixte se déposent normalement avec les boues, mais il arrive qu'on en trouve en surface dans certaines conditions et même parfois dans la spiruline récoltée. Ceci n'est pas grave. Ces cristaux se redissolvent immédiatement par acidification (comme c'est le cas dans l'estomac !). A noter qu'en l'absence d'ammonium les mêmes phénomènes ont tendance à se produire aussi, le phosphate de magnésium étant lui aussi fort insoluble aux pH > 9. Il est recommandé de maintenir une concentration de Mg approximativement égale à celle de P.

Lorsque l'eau utilisée est calcaire et surtout très calcaire (100 et jusqu'à 500 mg de Ca/l, voire plus), le phosphate a tendance à précipiter sous forme de phosphates de calcium (très insolubles), et ceci d'autant plus que le pH et la température de la culture seront élevés. Mais les phosphates insolubles peuvent rester en sursaturation (en solution) sans précipiter pendant très longtemps, surtout en présence de matières organiques, et même si parallèlement du carbonate de calcium précipite. Il est donc très difficile de prédire quand le phosphate en solution va être insuffisant pour une bonne croissance de la spiruline. C'est pourquoi il est recommandé, si on dispose d'un test permettant de doser le phosphate, de vérifier assez souvent la teneur en phosphate du milieu de culture si l'eau est très calcaire. On trouve des kits pour doser le phosphate dans les boutiques d'aquariophilie. En cours de culture, surtout en cas de faible croissance ou de problèmes, il est bon de mesurer la teneur en phosphate du milieu filtré et, si elle est < 5 mg/l, de rajouter du phosphate ; si on n'a pas de test phosphate on peut tenter de rajouter du phosphate pour ranimer la croissance. Dans le cas où l'eau est calcaire, la formule de milieu de culture donnée ci-dessus (formule) doit de préférence être adaptée : diminution ou suppression de l'ajout de calcium (cet ajout équivaut à 36 mg de Ca/litre dans la formule), et majoration de l'ajout de phosphate (par exemple pour chaque mg de Ca excédentaire ajouter 0,5 mg de P, soit par exemple 1,6 mg d'acide phosphorique). On peut dire que les phosphates de Ca insolubilisés constituent une réserve de Ca et de P, car ils peuvent se redissoudre en cas de besoin ; cependant cette possibilité est limitée par les boues organiques et les imperfections de l'agitation près du fond ou dans les angles du bassin. Le programme de calcul de milieu MEDFEED (voir plus loin) tient compte de ce supplément de phosphate. Il existe une alternative : ajouter 80 ppm d'EDTA comme dans le milieu Zarrouk, mais on peut répugner à ajouter une telle quantité de ce produit chélatant, 10 fois la dose contenu dans le Ferfol, d'autant que son action n'est pas garantie.

Lorsque le pH d'un milieu en cours de préparation à partir de bicarbonate de sodium et d'eau calcaire doit être relevé par ajout de soude, il est important de n'ajouter le phosphate qu'après la soude pour éviter la formation d'un précipité en flocons décantant très difficilement ou même ayant tendance à flotter, comme nous l'ont montré des essais faits en octobre 2005 à Montpellier (eau à 116 ppm de Ca).

L'eau peut aussi être traitée pour diminuer sa teneur en calcium avant utilisation, ce qui complique un peu mais peut être rentable (voir <u>Annexe 31</u>.

Précautions pour le stockage d'eau traitée : stockage.

Précautions pour le stockage de milieu de culture neuf : voir § 4.8 stockage.

# 4.2) Milieu "Zarrouk" (thèse Zarrouk (1966), page 4)

Le milieu standard de Zarrouk, très souvent cité et servant de référence, mais pas très économique, est fabriqué à partir d'eau distillée et contient, en g/litre :

```
NaHCO3 = 16,8; K2HPO4 = 0,5; NaNO3 = 2,5; K2SO4 = 1,0; NaCl = 1,0; MgSO4, 7 H2O = 0,2; CaCl2 = 0,04; FeSO4, 7 H2O = 0,01; EDTA= 0,08; « solution A5 » = 1,0; « solution B6 » = 1,0.
```

Composition de la « solution A5 », en g/l: H3BO3 = 2,86; MnCl2, 4 H2O = 1,81; ZnSO4, 7 H2O = 0,222; CuSO4, 5 H2O = 0,079; MoO3 = 0,015.

Composition de la « solution B6 », en g/l: NH4VO3 = 0.02296; K2Cr2(SO4)4, 24 H2O = 0.096; NiSO4, 7 H2O = 0.04785; Na2WO4, 2 H2O = 0.01794; Ti2(SO4)3 = 0.04; Co(NO3)2, 6 H2O = 0.04398.

On peut remarquer que le produit de solubilité du phosphate tricalcique est très largement dépassé dans cette formule, mais l'EDTA l'empêche de précipiter.

# 4.3) Et si l'on n'a aucun produit chimique?

Dans ce cas, ou si l'on veut produire une spiruline "100% biologique", utiliser des produits naturels. Par exemple on peut utiliser du bicarbonate de sodium naturel américain, la trona ou le <u>natron</u> ou de la lessive de cendres de bois, et tout le reste peut être remplacé par 4 ml d'urine (<u>Bibliographie : Jourdan</u>) par litre, plus le sel et, si nécessaire, du fer. Voir dans le chapitre "Nourriture" (<u>urine</u>) les précautions qu'implique l'utilisation d'urine. Si l'urine est proscrite pour une raison ou une autre, on a recours au nitrate du Chili et à l'acide phosphorique extrait de la <u>poudre</u> d'os calcinés (le phosphate naturel et le superphosphate contenant trop de cadmium) ; malheureusement le nitrate du Chili a été déclaré "non bio" en Europe malgré son origine naturelle ; alors il y a encore une possibilité : les feuilles de végétaux comestibles bon marché (exemple l'ortie) qu'on met à tremper dans la lessive carbonatée et qui apportent tous les éléments y compris du carbone, mais leur innocuité n'est pas prouvée et ils ont tendance à salir le milieu. On peut aussi utiliser les "purins de feuilles", mais leur odeur est plutôt désagréable.

A noter que l'eau de mer filtrée (à la rigueur le sel brut) est une bonne source de magnésium et apporte aussi du calcium, du potassium et du soufre.

A noter aussi la possibilité de mettre dans le milieu de culture des produits réputés insolubles mais qui en fait permettent la solubilisation progressive d'éléments consommés par la spiruline; on peut citer la poudre d'os calcinés (apport de phosphore et calcium), le calcaire et la dolomie broyées (apport de calcium et magnésium), les boues résiduaires d'eau de cendre (apport de magnésium, calcium, soufre et oligo-éléments) et l'argile (apport d'oligo-éléments). Ces produits décanteront au fond du bassins où ils risquent d'être recouverts assez vite par des boues et perdre ainsi leur efficacité. L'agitation au balai peut aider; mais il faut prévoir le renouvellement de ces ajouts à chaque nettoyage du bassin.

# Préparation de l'eau de cendre

La cendre de bois utilisée doit être propre (aussi blanche et sans suie que possible) et riche en sels solubles. Les meilleurs bois sont (en Europe) ceux de peuplier, orme, tilleul, bouleau, pin, eucalyptus; les branches sont plus riches que les troncs. En Afrique certaines parties des palmiers sont particulièrement riches en potasse et servent traditionnellement à l'extraction de potasse, notamment

pour la fabrication du savon (il existe d'ailleurs des fours spécialement construits pour obtenir une cendre blanche à cet effet). En France existent des poêles à bois dits « Turbo » produisant une cendre blanche (voir par exemple <a href="http://rocles03.free.fr">http://rocles03.free.fr</a>). Pour fabriquer la lessive de cendre, on utilise par exemple le dispositif suivant: une bassine à fond percé, une couche de cailloux sur le fond, une toile, et 30 à 50 cm de cendre dans la toile; on verse l'eau sur la cendre (environ 5 litres d'eau par kilo de cendre, et ceci plusieurs fois de suite) et on la fait percoler à travers la couche de cendre; au début le jus coule concentré et très caustique; s'en protéger car il attaque rapidement la peau et ne doit jamais atteindre les yeux (en cas d'atteinte, rincer immédiatement et abondamment à l'eau). On peut recycler les premiers jus. Jeter la vieille cendre quand elle est épuisée et recommencer avec de la neuve. Attendre une quinzaine de jours que la carbonatation de la lessive se fasse à l'air, dans un bassin d'environ 15 cm d'épaisseur de liquide. Pendant cette période, veiller à ce qu l'air soit renouvelé et agiter en remuant de temps en temps. Le temps de carbonatation étant inversement proportionnel à l'épaisseur, si l'on veut aller plus vite il suffit d'étaler la solution en couche plus mince; une autre possibilité pour gagner du temps est de neutraliser avec un peu de bicarbonate de sodium (voir <a href="mailto:Annexe">Annexe</a> 13) ou de gaz carbonique concentré.

# Préparation d'un milieu à base d'eau de cendre

Mesurer la salinité (voir <u>Annexe 3</u>, courbe 2) ou mieux l'alcalinité (voir <u>Annexe 5</u>) de l'eau de cendre carbonatée. Diluer et saler: La dilution normale est à 8 g/l de sels de cendres (ou bien alcalinité = 0,1), plus 5 g/l de sel de cuisine, mais en cas de pénurie on peut diminuer considérablement la dose de sels de cendres tout en conservant la salinité totale à 13 g/l en mettant plus de sel. Ne pas oublier de rajouter du <u>fer</u>. Pour mieux faire comprendre, voici un exemple donnant un milieu de culture pour 4 m², prêt à être ensemencé:

Lessiver 20 kg de cendres avec 3 fois cent litres d'eau Carbonater la lessive à l'air quinze jours sous faible épaisseur Diluer à densité (20°C) = 1,005 avec 300 litres d'eau Saler avec 3 kg de sel

Ajouter les éléments manquant : 80 g de Sirop de fer, et 2 litres d'urine.

Si l'urine est impossible, la remplacer par les apports voulus en azote, phosphate, magnésium et calcium, mais qui ne seront pas toujours "bio" et pourront inclure engrais NPK et urée.

#### Préparation de sulfate de magnésium à partir de cendre de bois

Après avoir extrait de la cendre les sels solubles (comme on vient juste de le décrire), le gateau de filtration résiduaire peut servir à fabriquer une solution de sulfate de magnésium. Voici une recette qui a donné de bons résultats (essayée à Montpellier en Février 2006).

Diluer 1 kg de pâte résiduaire humide (résidu de fabrication d'eau de cendre) dans 4,5 litres d'eau. Ajouter progressivement de l'acide sulfurique à 32 % [Attention: manipuler l'acide avec précautions, en ayant toujours de l'eau à portée de main pour se laver immédiatement en cas de contact avec la peau]: il se dégage beaucoup de gaz carbonique, veiller à ne pas faire déborder le récipient. Arrêter l'addition d'acide quand il n'y a plus de dégagement de gaz (dans notre exemple il a fallu mettre 1,16 kg d'acide). Le pH est alors voisin de 5, mais il remonte vers 7,5 en quelques jours par fin du dégagement de gaz. Décanter et filtrer la solution obtenue, environ 6 litres, qui titre:

- 1,75 g de Mg / litre, soit en équivalent MgSO4,7 H2O : 18 g / litre
- 0,38 g de Ca / litre, sous forme de sulfate de calcium
- 0,015 g de phosphore / litre
- 2,6 g de soufre / litre

Le résidu est constitué en grande partie de plâtre (sulfate de calcium) sale (brunâtre).

L'utilisation de cette solution comme source de Mg apporte des quantités de Ca, P et S qui peuvent généralement être négligées.

Les 6 litres de solution suffisent pour faire 1000 litres de milieu ou produire 10 kg de spiruline. Il faut donc environ 40 g de cendres + 40 g d'acide sulfurique (compté en 100 %) par kg de spiruline.

# Préparation de l'acide phosphorique à partir des os (Méthode de Jacques Falquet, décembre 2003)

à l'acide sulfurique

#### Matériel:

Des os (de n'importe quel animal, même de vieux os conviennent)

De quoi faire un bon feu

Un mortier

Une balance de cuisine

Une bassine ou un seau en plastique (le métal ne convient pas, sauf si il est émaillé) d'une contenance de 10 litres au moins.

De l'acide de batterie (= acide sulfurique à 25%). Attention : ne JAMAIS prendre l'acide qui se trouve dans une batterie : utiliser uniquement de l'acide neuf, vendu en flacons.

Des récipients pour le stockage du liquide obtenu (en verre ou en plastique, le métal ne convient pas)

#### Méthode:

Calciner fortement des os dans un feu de braises

Après refroidissement, retirer soigneusement les os (prendre le moins possible de cendres) Réduire ces os en poudre (si les os ont été bien calcinés, ils sont blancs-gris et très faciles à broyer) Dans une bassine en plastique (et hors d'accès des enfants!):

- Pour 1 Kg de poudre d'os calcinés, ajouter 4 litres d'acide de batterie, remuer et laisser au moins deux jours (en remuant de temps en temps).
   Attention: manipuler l'acide avec précautions, en ayant toujours de l'eau à portée de main pour se laver immédiatement en cas de contact avec la peau.
- Ajouter ensuite 4 litres d'eau, remuer puis laisser reposer quelques heures.
- Prendre délicatement autant de liquide clair que possible et le garder dans un bidon de plastique ou dans des flacons de verre. [NDLR : nous préférons filtrer la boue blanche obtenue, puis la laver sur filtre avec une même quantité d'eau ; en pressant le gâteau de filtration, le rendement peut être alors proche de 100 % et le volume obtenu est double]

Attention! Ce liquide (appelons-le « extrait d'os ») est <u>corrosif</u>: garder ce produit hors d'atteinte des enfants ou des personnes étrangères au projet. Etiquetter et inscrire un signe d'avertissement sur chaque flacon!

L'« extrait d'os » contient environ 50 grammes d'acide phosphorique par litre

Pour préparer du milieu de culture de spiruline neuf, on utilisera (en remplacement du phosphate) deux litres d'extrait d'os pour 1000 litres de milieu de culture.

Pour nourrir la spiruline après récolte, on utilisera comme source de phosphore :

# 1 litre d'extrait d'os par Kg de spiruline sèche récoltée.

Ceci, bien sûr, en compléments des autres produits (nitrate, etc.)

- au jus de citron

#### Matériel:

Des os (de n'importe quel animal, même de vieux os conviennent) et de quoi faire un bon feu.

Un mortier, une balance de cuisine.

Une marmite

Du jus de citron

#### Méthode:

Calciner fortement des os dans un feu de braises

Après refroidissement, retirer soigneusement les os (prendre le moins possible de cendres)

Réduire ces os en poudre (si les os ont été bien calcinés, ils sont blancs-gris et très faciles à broyer)

Dans une marmite, mélanger 100 g de poudre d'os par litre de jus de citron

Faire bouillir doucement pendant 15 minutes

Laisser reposer au moins un jour, en remuant de temps en temps.

Filtrer sur une toile fine

Le liquide récupéré contient environ 20 g/l de phosphate soluble. Si nécessaire, on peut le concentrer par ébullition prolongée.

#### **Utilisation:**

Pour préparer du milieu de culture de spiruline neuf, on utilisera (en remplacement du phosphate) **cinq litres** de ce jus pour **1000 litres** de milieu de culture.

Pour nourrir la spiruline après récolte, on utilisera comme source de phosphore :

# 2.5 litre de jus par Kg de spiruline sèche récoltée.

Ceci, bien sûr, en compléments des autres produits (nitrate, etc.)

(N.B. 1 : se méfier des poudres d'os calcinés vendues sur les marchés, en Afrique par exemple, dont la qualité peut être douteuse ; mieux vaut la fabriquer soi-même !)

<u>N.B. 2</u>: Cette méthode de préparation d'acide phosphorique est applicable aux phosphates de calcium naturels issus de la décomposition du guano, comme le produit dénommé PHOSMAD à Madagascar.

# 4.4) Renouvellement du milieu de culture/purges

Le milieu de culture doit rester peu coloré et peu trouble pour assurer la meilleure marche. Normalement les bactéries et le zooplancton se chargent de la minéralisation et du recyclage des déchets biologiques. Mais il arrive que la production de déchets dépasse leur élimination (surtout dans les bassins à productivité poussée) ; il se peut aussi que le milieu s'épuise en oligo-éléments ou que la salinité ait tendance à devenir trop élevée (en cas d'alimentation carbonée sous forme de bicarbonate de sodium ou d'alimentation en azote sous forme de nitrates), ou encore si l'eau d'appoint est saumâtre : il faut alors remplacer le milieu de culture ou pratiquer une purge. Cette purge se fait de préférence par le fond (par pompage ou siphonnage) en éliminant en même temps des boues, ou bien lors des récoltes en ne recyclant pas le filtrat. Si les pluies font monter le niveau du bassin au point où il risque de déborder, il faut aussi pratiquer une purge pour faire baisser le niveau. Remettre dans le bassin la quantité de sels contenus dans la purge (sauf, évidemment, ceux dont on veut éventuellement abaisser la concentration). Si on a purgé parce que le niveau était trop haut à cause de la pluie, on ne remet évidemment que les sels, sans eau.

Si un bassin s'avère trop riche en un élément (urée mise en excès par exemple) et si son niveau est suffisamment bas, on peut lui ajouter du milieu neuf privé de l'élément en trop, de manière à diluer celui-ci.

La marche sans renouvellement ni épuration du milieu de culture pendant plusieurs années doit être possible si les oligo-éléments sont régulièrement apportés, et si la productivité n'est pas excessive par rapport à la profondeur de culture (la profondeur exprimée en cm doit être au moins le quadruple de la productivité moyenne exprimée en g/jour/m²) et de préférence si l'agitation est maintenue la nuit pour améliorer l'oxygénation. Dans la pratique cependant un certain taux de renouvellement du milieu aide à maintenir négligeable la concentration en contaminants éventuels (chimiques ou biologiques) et à assurer l'alimentation en oligo-éléments (par les traces contenues dans l'eau d'appoint ou les sels). Il est sage de tabler au minimum sur un renouvellement tous les 2 kg de spiruline produite par m² de

bassin, soit tous les 6 à 18 mois selon la productivité, en une fois ou, mieux, progressivement. Pour ne pas avoir d'ennuis, si on peut se le permettre, il vaut mieux renouveler le milieu tous les 3 mois (ou purge de 1 % / jour), mais il faut savoir que ce n'est pas une nécessité.

- N.B. a) La marche sans ou presque sans renouvellement nécessite de surveiller de plus près les contaminants possibles.
- b) Le non-recyclage du jus de pressage équivaut à un taux de purge de l'ordre de 0,02 %/jour. Si la moitié de l'azote est apportée par le nitrate, celui-ci apporte à peu près l'alcalinité perdue par cette purge.

# 4.5) Epuration et recyclage du milieu de culture

Il est en principe recommandé, pour des raisons écologiques, de ne pas jeter le milieu purgé dans l'environnement mais soit de l'utiliser en alimentation animale, soit de le laisser s'évaporer à sec dans un bassin à part jouant le rôle de "marais salant", de préférence à l'abri de la pluie sous serre. Les sels récupérés, semblables au natron naturel, peuvent probablement être purifiés par calcination (attention au bon réglage de la température et à l'apport d'oxygène, pour éviter le noircissement par charbonnement) ou par recristallisation, et recyclés, mais ceci reste à essayer. Avec l'évaporation à sec, un renouvellement tous les 3 mois nécessiterait une surface d'évaporation d'un tiers de la surface des bassins.

Il est aussi possible de recycler le milieu de culture après épuration partielle (procédé utilisé par F. Haldemann en Equateur) : on s'affranchit dans ce cas de la relation du § 4.4 ci-dessus (profondeur = 4 x productivité) ; cette épuration consiste en une combinaison de filtration, décantation et traitement biologique par la flore naturelle, à l'abri de la lumière, dans des bassins profonds de 1 à 2 m. avec un temps de séjour global de 2 à 4 semaines. Autre façon de procéder, moins bon : envoyer les purges dans un bassin "naturel" peu ou pas agité, de surface égale au tiers de celle des bassins actifs et profond de 2 m., récupérer pour l'alimentation animale les (très belles) spirulines qui s'y développent et recycler le milieu après stérilisation éventuelle. Un simple stockage du milieu de culture pendant 6 mois à 20°C, sans agitation et à l'abri de la lumière, le purifie très bien : en zone tempérée, par exemple, le milieu de culture se purifie de lui-même nettement pendant l'hiver où la production est nulle, et ceci malgré la basse température.

Plutôt que de construire une installation de purification, il parait plus simple, au niveau artisanal, de majorer la surface et/ou la profondeur des bassins pour y réaliser l'épuration biologique "in situ", au prix d'une productivité plus basse, mais avec un taux de purge du milieu très faible, voire nul. Autre solution possible : utilisation des purges comme engrais par épandage agricole ou sur tas de compost. La forte concentration du milieu de culture en sodium est gênante pour de nombreuses plantes, mais pas pour toutes (par exemple pas pour le palmier cocotier). On peut aussi remplacer dans la formule du milieu de culture le maximum d'ions sodium par des ions potassium. L'eau de cendre (assez concentrée en potasse pour ne pas nécessiter plus de deux ou trois grammes de sel par litre) convient. Sinon on peut utiliser un milieu contenant 10 g de bicarbonate de potassium + 2 g de nitrate de potassium + 1 g de sulfate dipotassique + 3 g de sel par litre (le reste comme au § 4.1). Pour obtenir un milieu à pH proche de 10, on pourra remplacer les 10 g de bicarbonate de potassium par 6 g de bicarbonate de potassium + 2 g de potasse caustique (attention : mêmes précautions de sécurité qu'avec la soude !) ou bien par 3 g de bicarbonate de potassium + 4 g de carbonate de potassium. Un milieu riche en potassium est au moins deux fois plus cher qu'un milieu riche en sodium, mais il a l'avantage supplémentaire de donner une spiruline qui peut être utile pour certains régimes "sans sodium"; cet avantage pourrait plus que compenser le surcoût du milieu.

#### 4.6) Utilisation de l'eau de mer

Utiliser l'eau de mer pour établir et maintenir une culture de spiruline, sans traitement préalable de l'eau de mer autre qu'une filtration, est possible mais à condition de travailler à un pH régulé avec une grande précision au voisinage de celui de l'eau de mer, ce qui est techniquement trop difficile pour les

producteurs artisanaux. En effet l'eau de mer contient une quantité excessive de calcium et de magnésium qui, aux pH élevés, provoquent une précipitation abondante de carbonates et phosphates. D'autre part la salinité élevée de cette eau (35 g/l) interdit son emploi comme eau d'appoint pour compenser l'évaporation, sauf si celle-ci est maintenue très faible par utilisation judicieuse de bassins sous serre.

Ripley Fox a développé le concept d'une ferme de spiruline (géante) fonctionnant à l'eau de mer traitée au carbonate de soude, lui-même produit sur place à partir de soude électrolytique. Le chlore et l'hydrogène sous-produits de l'électrolyse sont transformés en acide chlorhydrique utilisé pour générer du CO2 pur à partir de carbonate de soude. Le problème de la compensation de l'évaporation est réglé en rejetant à la mer le milieu de culture (préalablement neutralisé) lorsque sa salinité est devenue trop élevée. Ce concept sera peut-être appliqué un jour, mais il demande de gros moyens, hors de portée d'un petit producteur.

Par contre l'eau de mer peut être utilisée avec profit, en petites quantités, pour apporter magnésium et soufre.

# 4.7) pH optimum

Le pH optimum d'un milieu de culture neuf à confectionner dépend de son utilisation.

S'il doit être inséminé pour démarrer une nouvelle culture, son pH doit être d'au moins 9 : s'il est trop bas la culture risque de mal démarrer, avec formation de grumeaux ou précipitation de la spiruline au fond. Le natron ou le mélange carbonate + bicarbonate de sodium, ou l'eau de cendre carbonatée sont donc bien adaptés à ce cas.

Par contre si le milieu neuf doit servir d'appoint à une culture existante son pH peut être avantageusement voisin de 8, ce qui contribue à maintenir le pH de la culture suffisamment bas par apport de bicarbonate de sodium. C'est typiquement le cas des bassins en cours d'extension ("à géométrie variable"). Dans ce cas le milieu doit être à base de bicarbonate de sodium seul, si ce dernier est disponible. Si le milieu est à bas pH on pourra plus facilement utiliser du NPK non désammonié sans risquer de tuer la spiruline, car ce qui est dangereux c'est NH3 (à bas pH c'est NH4 qui domine).

# 4.8) Stockage de milieu de culture neuf et d'eau traitée

Il n'est pas recommandé de stocker du milieu de culture neuf, même à l'abri de la lumière, car il constitue par nature un "bouillon de culture" où pourrait se développer des micro-organismes indésirables. Cette remarque s'applique surtout aux milieux à bas pH.

Il est également fortement déconseillé de stocker de l'eau douce, par exemple de l'eau traitée pour éliminer l'excédant de dureté, en présence de lumière car des algues étrangères et des cyanobactéries s'y développeraient en quelques jours. Or parmi ces dernières il en est de hautement toxiques (cas de certains lacs d'eau douce).

#### 4.9) Logiciels de calcul "MILIEU"

Pour faciliter le calcul des milieux et de la nourriture minérale en tenant compte des matières premières et de l'analyse de l'eau disponibles des programme de calcul ont été rédigés ( <u>Calculs</u>).

#### 5) ENSEMENCEMENT

#### 5.1) Quelle souche de spiruline utiliser?

Il existe des spirulines de "races" (souches) différentes, bien qu'elles aient toutes des caractères communs qui les distinguent des autres algues. On reconnaît très vite au microscope ou même à la loupe de fort grossissement (25 fois) si les spirulines sont spiralées ou droites mais il est moins facile de dire de quelle souche il s'agit car les spirulines ont une forte tendance à changer de taille et de forme (spiralée plus ou moins serrée ou "ondulée" ou droite). En présence de formes droites il existe un doute : s'agit-il de spirulines ou d'algues Oscillatoria semblables aux spirulines droites et dont certaines sont toxiques ? Un œil exercé ne peut confondre une droite avec une des Oscillatorias toxiques courantes (Algues étrangères). Un trop fort pourcentage de droites conduit à des difficultés de récolte. Donc prendre de préférence une semence 100 % spiralée, de grande taille, d'un beau vert tirant vers le bleu-vert, filtrant facilement. On peut se procurer des souches pures à l'Institut Pasteur ou encore chez Antenna Technologies à Genève. Toutes sont en fait des "Arthrospira platensis" selon la dénomination scientifique. Nous appelons "spiralées type Lonar" les souches dont les filaments sont en "queue de cochon", telle la "Lonar". Nous appelons "spiralées ondulées" (ou "ondulées" tout court) les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "Paracas". Pour faciliter le choix de la souche, voici quelques éléments utiles :

- Les spiralées type Lonar flottent plus que les ondulées et les droites, ce qui permet éventuellement leur séparation.
- Les spiralées filtrent mieux et leur biomasse "fait la boule" facilement sur le filtre, du moins lorsque le milieu de culture est assez pur.
- Les spiralées ont plus tendance à former des peaux et grumeaux verts flottants, surtout à pH bas et en l'absence d'ammonium (voir § 7.9), ce qui est un inconvénient.
- La teneur en matière sèche dans la biomasse essorée prête au séchage est plus élevée chez les ondulées et les droites que chez les spiralées type Lonar, ce qui est un avantage.
- La biomasse des spiralées type Lonar sèche plus facilement.
- Les ondulées n'ont pratiquement pas tendance à devenir droites, du moins dans les conditions d'exploitation normales.
- Les ondulées résistent au pompage par pompe centrifuge, alors que les spiralées se cassent.
- Les ondulées résistent mieux au choc osmotique (on peut pratiquement laver la biomasse avec de l'eau douce sans que les cellules n'éclatent).

Il n'y a pas de différences de composition ou de valeur nutritionnelle notables entre ces souches, par contre la couleur verte des ondulées est plus sombre; certains préfèrent la couleur et la saveur de l'une ou l'autre souche, mais ceci est affaire de goût personnel.

Les ondulées et les droites ont des caractères communs, mais les ondulées ne souffrent pas de la suspicion de ne pas être de "vraies" spirulines.

Au total, notre préférence pratique va aux « ondulées », bien que les « spiralées » soient plus belles d'aspect au microscope.

# 5.2) Ensemencement à partir d'une quantité importante de semence

Pour ensemencer il suffit de transvaser dans du milieu de culture neuf un certain volume de culture provenant d'un autre bassin en production jusqu'à ce que la couleur devienne verte (le « disque de <u>Secchi</u> » ne doit plus se voir à 5 cm de la surface). On ensemence de préférence le soir. On peut réduire le volume à transférer en prélevant du surnageant concentré ou encore en récoltant de la spiruline sans l'essorer (bien la disperser dans un peu de milieu de culture avant de la verser dans le bassin, ceci pour éviter de laisser des grumeaux, ce qui n'est pas facile

avec les souches spiralées : utiliser par exemple une hélice de mélangeur de peintures branchée sur une perceuse).

Pour réussir le démarrage d'une culture, on a toujours intérêt à démarrer aussi concentré que possible en spiruline. C'est pourquoi on démarre avec le niveau minimum de liquide (par exemple 5 à 10 cm) si la disponibilité de semence est limitée, et/ou on utilise la technique du « bassin à géométrie variable ». Une culture ensemencée concentrée (Secchi < 3 par exemple) risque beaucoup moins d'être envahie par les chlorelles ou de souffrir de l'entraînement de spirulines dans les boues calcaires (quand on travaille avec une eau dure).

Si la culture commençante est trop diluée ("Secchi" supérieur à 5 cm), il faut ombrer, sinon on risque la mort des spirulines par photoxydation au soleil. Il faut aussi veiller à éviter les dépôts minéraux qui entraînent avec eux des spirulines (pour cela filtrer au besoin le milieu neuf avant de l'ensemencer et maintenir l'agitation pendant la nuit si possible). Si le niveau initial est le niveau normal, et si le milieu neuf est à base de bicarbonate de sodium, ne pas ensemencer trop concentré non plus, sinon il faudra récolter avant que le pH ait atteint le niveau minimum de 9,6 recommandé (voir § 7.13); mais il est facile de démarrer avec un milieu de culture à pH 9,6 ou plus en mélangeant au bicarbonate de sodium du carbonate de sodium ou de la soude (voir Annexe 12 et Annexe 13). Un autre avantage d'un pH initial élevé est la réduction de la tendance initiale à la formation de grumeaux avec les souches spiralées, avantage pouvant être décisif quand on a peu de semence : il ne faut pas en perdre en grumeaux ! D'autre part il est certain qu'il y a intérêt à ne pas soumettre la semence de spiruline à un choc de pH : il nous est arrivé de voir mourir une culture débutante suite à un choc de pH de 2 unités (de 10 à 8).

Il est permis de stocker quelques jours et transporter une semence très concentrée (3 à 4 g/l par exemple, pas plus), à condition de l'agiter et de l'aérer au moins de temps à autre sinon elle fermente et sent mauvais. A 2 g/l, le transport peut durer dix jours. A noter qu'une couche flottante prélevée avec soin peut titrer 5 à 10 g/l. Dans une semence très concentrée le pH baisse et une odeur mercaptée (odeur de choucroute) se développe au cours du temps. Après l'ensemencement avec une spiruline ayant "souffert" au stockage, le nouveau bassin peut mousser excessivement, mais cela disparaît normalement en un à deux jours.

La semence se conserve mieux à basse température, vers 10°C par exemple (réduction de la respiration).

La biomasse fraîche, même pressée, peut servir à ensemencer un bassin. C'est important pour faciliter le transport sous forme concentrée et pour ensemencer immédiatement un grand volume

# 5.3) A partir d'une petite quantité de semence

Pour implanter une culture de spiruline dans un site qui en est dépourvu, ou pour redémarrer avec une nouvelle souche, il n'est généralement pas possible de disposer d'une grande quantité de culture pour ensemencer. Fréquemment on ne dispose que d'un flacon rempli à moitié seulement (pour maintenir assez d'oxygène). On peut se procurer une souche pure auprès de l'Institut Pasteur, on n'aura que quelques millilitres de culture au départ (N.B. le milieu de culture indiqué par l'Institut Pasteur dans sa documentation accompagnant ses souches correspond au maintien des souches et il diffère du milieu de culture pour la croissance). On peut aussi partir d'un seul filament qu'on isole soi-même (voir § 5.6).

Supposons que le point de départ soit 150 g de culture à 1 g/l de concentration en spiruline et que l'objectif soit de multiplier le volume de semence initial pour ensemencer un bassin de 1000 litres. Il va falloir faire au moins 4 cultures successives, en multipliant chaque fois le volume par 5, ce qui demande environ trois semaines au total (avec un taux de croissance de 35 %/jour, facile à obtenir avec du milieu de culture à base de bicarbonate de sodium). La première mini-culture se fera dans un bocal de deux litres, la seconde dans une bassine de 10 litres, la troisième dans une bassine de 50 litres, la dernière dans un mini bassin provisoire en film plastique de 1 m² (ou plusieurs grandes bassines).

Si la concentration initiale de chaque culture est plus faible que Secchi = 5 cm, il faut non seulement ombrer mais agiter jour et nuit (sinon les spirulines peuvent s'agglomérer, notamment sur les bords, et ne plus pouvoir se disperser ensuite). Il est possible d'éviter cette agglomération en relevant le pH, mais cela augmente les boues minérales qui peuvent piéger aussi les spirulines. On arrive quand même à démarrer une culture en partant de très faibles concentrations (Secchi = 15).

L'agitation continue des cultures en petits récipients (bouteilles, seaux, bassines par exemple) se fait au moyen d'un petit bullage d'air comme dans un aquarium et nécessite un rapport hauteur de liquide/diamètre élevé, égal ou supérieur à 1, avec si possible un fond conique, le tube d'amenée d'air débouchant tout près du fond (il existe des compresseurs d'aquarium fonctionnant sur pile électrique). Il est pratique de chauffer et éclairer simultanément les petites cultures initiales en laboratoire par des lampes à incandescence ou halogène placées à la bonne distance pour maintenir automatiquement environ 35°C dans la culture.

L'agitation de volumes importants (> 100 litres) de cultures diluées peut se faire au moyen d'une petite pompe d'aquarium, mais on a intérêt à ne pomper qu'un quart d'heure par heure pour ne pas abîmer les spirulines, donc à utiliser un programmateur à horloge. Les souches ondulées sont beaucoup moins sensibles aux dégats des pompes.

Pour éviter la formation de grumeaux (surtout avec les souches spiralées type Lonar et s'il n'y a pas d'agitation continue) au début de l'ensemencement, il faut diluer très progressivement la semence concentrée, en ajoutant des petites doses de milieu de culture neuf à base d'urée, par exemple à chaque agitation, en gardant une concentration élevée en spirulines les deux premiers jours. On a ensuite intérêt à conserver une concentration en spiruline élevée (0,3 g/l ou plus) et donc à diluer le moins possible la culture à chaque augmentation de volume: une dilution progressive (par exemple quotidienne) est la meilleure. On peut pour cela utiliser un "bassin à géométrie variable", extensible en surface, facile à réaliser avec du film plastique. Chaque augmentation de volume (donc surface) se fait par dilution à l'aide de milieu de culture neuf (de préférence à base de bicarbonate de sodium). Le milieu neuf de dilution - s'il est à base d'urée comme source d'azote - doit comporter **une forte dose d'urée** (**0,04** g/l) ou, s'il est à base d'urine: 6 ml d'urine/l. Si le milieu neuf est à base de bicarbonate de sodium, donc de pH = 8, le pH de la culture se maintient autour de 9,6 pendant sa phase d'extension. Ce pH peut ne pas être suffisant pour éviter les grumeaux de spiralées: dans ce cas relever le pH en ajoutant du milieu à base de carbonate jusqu'à pH = 10,3.

# N.B.:

1) Une culture peut mourir suite à une dilution, un éclairage ou un chauffage trop forts ou un excès d'urée.

- 2) L'augmentation de niveau d'un bassin doit se faire par ajout de milieu de culture. L'ajout directement dans le bassin des sels non dissous peut être très dangereux pour la culture.
- 3) Si on prépare d'avance une réserve de milieu de culture de dilution, la garder peu de temps et fermée et à l'obscurité pour qu'elle ne risque pas de se contaminer par des algues étrangères.
- 4) Attention : un choc de pH de 2 unités est souvent mortel : lors des ensemencements veillez à minimiser les différences de pH entre semence et bassin.

#### 5.4) Taux de croissance initial

La vitesse de croissance dépend de plusieurs facteurs dont le pH. Elle est maximum à pH inférieur à 10, donc on a intérêt à utiliser du bicarbonate de sodium pour démarrer rapidement une nouvelle culture. On a aussi intérêt à maximiser la surface de culture (donc bassin peu profond si possible). La méthode d'extension progressive de la surface de bassin ("à géométrie variable") décrite au § précédent favorise une croissance rapide. On caractérise au mieux la rapidité d'implantation d'une nouvelle culture en calculant le taux de croissance exponentielle dans la phase initiale de croissance qui précède la phase des récoltes. Ce taux s'exprime en %de croissance en poids par jour. Dans des conditions favorables, en milieu à base de bicarbonate de sodium, il peut dépasser 30%/jour. A partir d'un gramme de semence (exprimé en spiruline sèche), un taux de 20%/jour permet d'obtenir 20 m² de bassin de 15 cm de profondeur prête à la récolte en 40 jours, ou 120 m² en 50 jours.

N.B. On serait tenté d'éclairer les cultures 24 heures par jour pour augmenter le taux de croissance, mais il ne faut pas soumettre les spirulines à plus de 16 heures d'éclairement par jour, même si l'on dispose d'éclairage artificiel.

# 5.5) Réserve de semence

En temps normal les bassins eux-mêmes servent de réserve s'ils restent en bonne santé et sans contaminant, mais il faut prévoir les accidents et comment passer la mauvaise saison éventuelle. On a aussi intérêt, parfois, à vidanger complètement les bassins et à les redémarrer à zéro pour assurer le maintien d'une bonne qualité de spiruline (sans contaminant, sans droites, filtrant bien). Pour cela il faut disposer de semence pure. Il est donc recommandé de conserver un peu de souche pure "en laboratoire" (= dans la maison), à température modérée ou ambiante, sous faible éclairage environ 12 heures/jour (en l'absence totale de lumière la spiruline meurt en quelques jours, par exemple en 2 jours à 35°C), légèrement agitée, et renouvelée ("repiquée") tous les 2 ou 3 mois : dans ces conditions, elle se conserve bien alors qu'en culture trop intensive elle a tendance à muter et peut dégénérer. Une bouteille en plastique convient très bien comme récipient. Pour agiter et aérer, le plus pratique est un petit compresseur d'air électrique pour aquarium, qu'on peut ne faire marcher que de temps en temps grâce à un programmateur (il existe de tels compresseurs et programmateurs fonctionnant sur courant continu). Pour à la fois éclairer et chauffer la culture il suffit d'une lampe de chevet de 40 Watt dirigée horizontalement vers la bouteille, à la distance donnant une température correcte (< 30°C). Pour conserver des quantités plus importantes de semence, on utilise des bassines ou aquariums, avec des lampes plus puissantes, à incandescence ou halogènes; les tubes luminescents chauffent peu et conviennent si la température ambiante est suffisamment élevée. Photo d'une réserve de semence :



# 5.6) Sélection et culture monoclonale

L'ensemencement à partir de n'importe quelle semence donne une culture ayant les mêmes contaminants éventuels que la semence. Pour être sûr d'avoir une culture pure ("monoclonale"), il faut théoriquement partir d'un seul filament sélectionné et lavé avec du milieu stérile.

Il est possible de séparer un filament individuel à partir d'un mélange de souches. Diverses techniques, basées sur une dilution de la culture d'origine, sont utilisables pour effectuer cette séparation, qui reste une opération difficile pour un non-spécialiste. Il est plus facile et rapide de prélever dans une culture très peu contaminée (par des spirulines droites par exemple) une goutte sans contaminant : la sélection se fait par examen au microscope à faible grossissement, en rejetant les gouttes contaminées ne serait-ce que par un seul filament étranger et en mettant les gouttes pures dans du milieu de culture filtré (en rinçant la lame de microscope à la pissette remplie de milieu de culture filtré). On collecte autant de "gouttes" pures que l'on peut dans le temps disponible : plus il y en aura, plus vite on obtiendra une semence utilisable. Il est prudent de faire cette opération de sélection régulièrement pour maintenir ainsi un stock pur de sécurité sans attendre qu'un % de contaminants (droites par exemple) trop élevé rende l'opération de sélection difficile.

# 6) NOURRITURE MINERALE DE LA SPIRULINE

[N.B. Des <u>logiciels</u> existent pour faciliter les calculs de milieux et de nourriture] Bien que la nourriture principale de la spiruline soit le carbone, il ne sera question dans ce chapitre que de la nourriture non carbonée, seulement minérale. Pour la nourriture en carbone voir <u>§ 7.8</u>. Le milieu de culture initial permet une croissance de la spiruline jusqu'à une concentration en spiruline voisine de 1 g/l (sans nitrate) à 2 g/l (avec nitrate), mais mieux vaut remettre dans le milieu les éléments nutritifs absorbés par la spiruline sans attendre l'épuisement du milieu. Ajouter l'urée (et le cas échéant le CO2 et/ou le sucre comme apport de carbone) quotidiennement en fonction de la récolte désirée ou escomptée dans la journée, les autres nutriments pouvant n'être ajoutés qu'une fois par semaine, voire une fois par quinzaine. Veillez à mettre l'urée (et le cas échéant le sucre) tôt dans la journée, juste après la récolte et

en respectant la règle donnée au N.B. c ci-dessous (<u>uréethéo</u>). L'utilisation du nitrate n'impose pas les mêmes précautions que l'urée mais celle-ci est moins chère et plus efficace, elle réduit la formation de grumeaux (important surtout chez les spiralées type Lonar) et elle renforce la vigueur parfois défaillante des spirulines (sans ammonium surtout les ondulées risquent de ne pas se laisser essorer facilement par pressage) ; de plus l'urée apporte du CO2 "gratuit". L'ammoniaque peut évidemment être utilisée au lieu d'urée, mais avec encore plus de précautions : là, le goutte-àgoutte est pratiquement nécessaire. Par contre l'ammoniaque a un avantage sur l'urée qui ne s'hydrolyse que petit à petit (une dose trop forte d'urée peut constituer une "bombe à retardement" en produisant de l'ammoniac). Le bicarbonate d'ammonium est une possibilité intéressante pour apporter à la fois de l'azote et du CO2 "gratuit" (double de l'urée).

Tous les ingrédients doivent être dissous avant d'être introduits dans la culture et pendant l'introduction la culture doit être sous agitation. [Remarque : L'ajout de petites quantités de produits acides (acide phosphorique par exemple) dans un milieu contenant du bicarbonate de sodium et du carbonate de sodium ne réduit pas son alcalinité mais abaisse son pH, c'est-à-dire transforme une partie du carbonate en bicarbonate sans perte de CO2. Ceci s'applique aussi bien aux ajouts lors de la préparation de milieu de culture que lors de l'ajout de nourriture à une culture. Mais si l'on prépare un mélange où l'apport d'acide est important il y aura perte d'alcalinité et de CO2, ce qui est dommage. Donc mettre l'acide directement dans le bassin.]

En se basant sur la composition élémentaire de la spiruline donnée en <u>Annexe 19</u> et les indications du § 4.1 sur le <u>milieu</u> de culture, il est facile de calculer les besoins en nourriture minérale selon les produits (engrais) dont on dispose. On tient compte de la pureté chimique des produits, des pertes en cours de production (photoxydation, consommation par les parasites, pertes chimiques et physiques) et lors de la récolte. On ne tient pas compte des apports par l'eau d'appoint sauf si l'évaporation est très forte et si l'eau d'appoint est très minéralisée. A titre d'exemple pouvant être utilisé assez couramment, voici une formule calculée pour le cas d'une eau non ferrugineuse et de faible dureté, pour une évaporation moyenne et pour un taux de pertes courant dans les petites exploitations:

# Grammes par kg de spiruline produite (comptée en sec) :

Urée = 300 g
Phosphate monoammonique = 50
Sulfate dipotassique = 40
Sulfate de magnésium = 30
Chlorure de calcium = 20
Fétrilon 13 (ou Ferfol) = 4
Solution d'oligoéléments (selon Annexe 26.2) = 50

(le phosphate monoammonique est souvent remplacé par de l'acide phosphorique, en quantité dépendant de la concentration de cet acide : par exemple 57 g d'acide à 75 % remplacent 50 g de phosphate monoammonique)

(le chlorure de calcium peut être remplacé par 30 g de nitrate de calcium si ce produit est disponible, ou par 13 g de chaux éteinte)

(Le fer peut être introduit sous forme de 50 ml de solution de fer chélaté à 10 g de fer/l, soit 77 g de Ferfol/litre).

#### N.B.

- a) La formule de nourriture ci-dessus n'inclut pas les besoins en nutriments correspondant aux purges de milieu de culture, qui doivent donc éventuellement être aioutés.
- b) La dose de fer ci-dessus correspond à 500 ppm de fer dans la spiruline ; elle peut être ajustée à la demande, certains médecins préférant une teneur inférieure en fer, d'autres 1000 voire 1500 ppm. Pour ces hautes teneurs en fer, l'addition d'un chélatant (EDTA, acide citrique, jus de carambole ou de citron) ou l'usage de fer chélaté est préférable (type Ferfol ou Fétrilon) au sulfate de fer seul. Il a été souvent rapporté que l'introduction du fer (non chélaté) sous forme de sulfate est beaucoup plus efficace au goutte-à-goutte (et avec agitation continue), mais cette remarque ne joue pas si l'on utilise du fer chélaté.
- c) La dose d'urée théorique est de 270 g/kg, mais surtout aux bas pH un excès s'avère nécessaire s'il y a tendance à la formation de grumeaux, peaux, etc. L'excès d'urée inutilisé se transforme en nitrate ou se perd à l'atmosphère sous forme d'ammoniac. Mieux vaut supprimer l'injection d'urée dès qu'une odeur d'ammoniac devient perceptible sur la culture ou, si l'on peut doser l'ammonium, suivre la règle donnée en Annexe 18 (N.B. b). L'urée est la source de CO2 la moins chère (à part l'air) et si la température du bassin est assez élevée on arrive à en consommer jusqu'à 0,8 kg/kg de spiruline, la partie non consommée par la spiruline se transformant en nitrate (en consommant de l'alcalinité, selon l'équation : CO(NH2)2 + 4 O2 + 2 Na OH = 2 NaNO3 + 3 H2O + CO2); en fait, de nombreux bilans d'azote nous ont montré qu'il semble se former plus de nitrate : on a par exemple mesuré sur un bassin nourri avec 600 g d'urée /kg de spiruline une « fixation » d'azote correspondant à 6 fois l'azote contenue dans la spiruline produite!. Normalement il ne peut pas s'agir de fixation d'azote de l'air puisque la spiruline n'a pas d'hétérocystes, mais on sait que la fixation d'azote sans hétérocyste est possible chez certaines cyanobactéries dans certaines conditions. Mais en l'absence totale d'urée il ne semble pas se former de nitrate. A noter que le nitrate formé peut ensuite servir de source d'azote par réduction biologique par la spiruline, avec restitution de l'alcalinité : NaNO3 + 4H2 = NaOH + NH3 + 2H2O, mais cela ne se produit pas tant qu'il y a assez d'urée car la spiruline préfère utiliser l'azote ammoniacal plutôt que d'effectuer ce travail de réduction très coûteux en énergie (glucose). Une accumulation de nitrate se produit alors dans le milieu de culture, où l'on a mesuré jusqu'à 5 à 10 g d'ion NO3!

Quand on dispose de nitrate pas trop cher, une alimentation azotée mixte (50 % nitrate, 50 % ammoniacal) est recommandée comme cela se pratique avec succès à la ferme de La Mé en Côte d'Ivoire : on met alors par kg de spiruline 140 g d'urée + 500 g de nitrate de potassium. Cela évite l'accumulation de nitrate dans le milieu, mais n'évite pas l'augmentation de salinité et de pH due au potassium introduit. Notez que si le nitrate est trop cher ou indisponible on peut quand même s'arranger pour faire une alimentation mixte urée/nitrate en utilisant le nitrate accumulé dans un autre bassin alimenté en urée seule (mais cela oblige à faire des mélanges de bassins).

Le bicarbonate d'ammonium NH4HCO3 est encore mieux que l'urée car il apporte le double de CO2 ; c'est un produit potentiellement très bon marché puisqu'il est l'intermédiaire obligé dans la fabrication du carbonate de soude Solvay, mais il n'est pas disponible commercialement partout (Solvay-Angleterre en vend). Il faut en poids 2,6 fois plus de bicarbonate d'ammonium que d'urée.

Voir par ailleurs ci-dessous en N.B. j (<u>phosphate</u>) les effets possibles d'un excès d'ammonium sur l'équilibre PO4/Mg/NH4 du milieu de culture.

- d) Selon la quantité et l'analyse de l'eau apportée pour compenser l'évaporation, les doses de sulfates, de magnésium, de calcium et de fer peuvent être réduites ou supprimées. Si l'eau est très calcaire, il peut être nécessaire de majorer la dose de phosphate pour compenser l'éventuelle précipitation de phosphate de calcium, en suivant la recommandation énoncée à propos du milieu de culture : compenser le Ca par la moitié de son poids en P ; il est recommandé de faire un dosage de phosphate dans ce cas-là environ une fois par mois ou quand la culture semble dépérir.
- e) L'usage de certains engrais agricoles à dissolution lente (slow release) ou peu solubles, superphosphate, phosphate diammonique (voir alinéa f ci-dessous), sulfate de potassium, n'est pas recommandé car ils contiennent généralement des additifs colorés et/ou odorants et des huiles qui souillent le milieu de culture, formant une pellicule grasse en surface de bassin (freinant l'absorption du gaz carbonique et la désorption de l'oxygène). Par ailleurs les engrais de ce type peuvent contenir des métaux lourds (notamment cadmium présent dans les phosphates naturels) dangereux parce que rapidement absorbés par les spirulines. Ces remarques ne s'appliquent pas à : urée, sulfate de magnésium, sulfate de potassium, nitrate de potassium, nitrate du Chili, phosphate mono ou diammonique, chlorure de potassium vendus comme engrais agricoles solubles, même granulés. Le sulfate de fer agricole est de qualité douteuse du point de vue pureté (après dissolution il nécessite au moins une décantation ou une filtration).
- f) Pour utiliser le phosphate diammonique granulé comme source de phosphore, si l'on n'en a pas d'autre, F. Ayala procédait comme suit : dans un litre d'acide chlorhydrique 0,5 N (50 ml d'acide concentré à 33 %, dilué dans un litre d'eau) ajouter 250 g de phosphate broyé et porter à l'ébullition ; éliminer la couche huileuse surnageant et récupérer le liquide décanté; répéter une deuxième fois sur les boues; mélanger les deux liquides décantés, soit environ 1,5 litres contenant à peu près 50 g de phosphore en solution utilisable, correspondant à 5 kg de spiruline. Vérifier que la spiruline produite à partir de cette source de phosphore répond à la norme en cadmium.
- g) L'apport des oligo-éléments par les traces contenues dans l'eau d'appoint et les sels peut ne pas suffire. Si l'eau d'appoint est trop pure (eau de pluie par exemple), on peut utiliser du sel non raffiné (plus éventuellement un peu d'argile et/ou d'eau de cendres) afin d'apporter des oligo-éléments, sans oublier de pratiquer les purges correspondantes en cas de salinité exagérée. Mais on peut aussi apporter une partie de l'azote par du nitrate du Chili (riche en oligo-éléments) ou bien on peut utiliser des concentrés d'oligo-éléments préparés à partir de produits chimiques (voir § 7.7 et Annexe 26).
- h) L'apport de calcium (chaux ou mieux nitrate ou chlorure de calcium) n'est nécessaire qu'au cas où l'eau d'appoint n'en contient pas assez, ou si l'on veut une spiruline enrichie en calcium comme celle de plusieurs producteurs industriels.
- i) La consommation de chlorure est théoriquement de 7 g de NaCl/kg de spiruline, mais il est pratiquement inutile d'en ajouter, sauf longévité extraordinaire du milieu de culture. Il est strictement inutile d'en ajouter en cas d'utilisation d'urine ou d'eau de mer.
- j) Lorsque le milieu contient simultanément les ions ammonium (NH4), magnésium (Mg) et phosphate (PO4), ce qui est le cas habituel aux pH intermédiaires, les concentrations de ces ions sont interdépendantes parce que la

solubilité du phosphate mixte d'ammonium et de magnésium est extrêmement faible. Pour éviter des déséquilibres, il faut maintenir la concentration en ammonium faible. La concentration en ammonium est automatiquement faible si l'urée est apportée par petites fractions et si le pH est élevé (une partie de l'ammonium se transformant en ammoniac NH3 sous l'effet du pH élevé). Il est recommandé de maintenir la concentrations en Mg approximativement égale à la concentration en P. En l'absence d'ammonium le phosphate de magnésium est lui-même assez insoluble.

h) Pour simplifier l'exploitation, on peut se contenter de nourrir la spiruline seulement une fois par mois mais cela entraîne des fluctuations assez fortes dans la composition de la spiruline, notamment en fer. C'est pourquoi il est recommandé de nourrir plutôt hebdomadairement, voire quotidiennement. Si l'urée est utilisée, elle doit être apportée quotidiennement. La base de la nourriture à apporter n'est pas la quantité récoltée mais celle produite par photosynthèse (il y a une différence significative si la concentration en spiruline varie notablement).

# Et si l'on n'a pas de produits chimiques ?

Il suffit d'ajouter 17 litres d'urine (c'est une dose moyenne puisque la concentration de l'urine est très variable en fonction du sujet et de son régime alimentaire) par kg de spiruline récoltée, plus le fer. L'urine apporte aussi du carbone, ce qui réduit la tendance du pH à monter et permet d'augmenter la productivité de 2 g/m²/jour en l'absence d'autre alimentation carbonée. Cette solution n'est proposée que pour répondre à des situations de survie, ou pour fournir de la spiruline destinée à l'alimentation animale, ou encore pour ceux qui préfèreraient une spiruline vraiment "biologique". Attention à répartir la dose régulièrement (comme pour l'urée) et à ajouter l'urine juste après la récolte (en tous cas pas le soir) et seulement par beau temps; en régime de croisière, il est recommandé de limiter la productivité à 7 g/j/m<sup>2</sup>. donc de ne pas ajouter de sucre, et de maintenir une hauteur de liquide assez élevée (minimum 20 cm) et aussi une concentration en spiruline d'au moins 0,4 g/l. Pour une consommation personnelle de la spiruline produite, la stérilisation de l'urine (personnelle, le sujet étant en bonne santé) n'est pas une nécessité (l'auteur n'a jamais stérilisé son urine), mais sinon elle parait indispensable au moins pour des raisons psychologiques. La stérilisation peut s'effectuer par ajout de 3,5 g de soude par litre 24 heures avant utilisation (l'augmentation du pH à 12-13 insolubilise une partie des composants : ne pas filtrer, afin de ne pas perdre ces composants, et homogénéiser avant utilisation). Certains disent que dans les pays type Afrique noire, l'urine pourrait contenir certains organismes résistant à ce type de stérilisation par pH élevé : à vérifier. En tous cas le Schistosoma haematobium, dont les œufs contaminent l'urine des personnes infectées de bilharziose, doit pouvoir s'éliminer par filtration de l'urine sur toile 30 µ, avant stérilisation par la soude. L'autre parasite pouvant se trouver dans l'urine, le Trichomonas vaginalis, n'est pas éliminé par cette filtration mais il ne survit que 24 heures dans l'urine. A noter que ces traitements par stérilisation et filtration n'ont pas encore été validés en ce qui concerne la qualité de la spiruline produite ; notamment on ne sait pas si le traitement de l'urine à la soude n'induit pas des transformations chimiques indésirables (en tous cas il n'empêche pas la spiruline de prospérer!). Par ailleurs voir les N.B. a), b), e) et f) ci-dessous. Une application spéciale de l'utilisation de l'urine pour faire de la spiruline est le recyclage des déchets biologiques des spationautes dans les futures stations spatiales: la spiruline est le meilleur moyen à la fois de retransformer le CO2 en oxygène et les déchets en nourriture. Ce procédé est à l'étude dans de grands laboratoires dans différentes parties du monde

La production de spiruline "biologique" est également possible sans recourir à l'urine, en n'utilisant que des produits "naturels" (voir § 4.3) comme la trona, le sulfate de magnésium sous-produit des marais salants ou extrait des résidus d'extraction d'eau de cendre et l'acide phosphorique extrait de la poudre d'os, ainsi que les feuilles d'espèces végétales comestibles bon marché. Le nitrate du Chili s'est vu refuser l'agrément "bio", alors que le Ferfol est admis. Les feuilles vertes d'espèces non toxiques sont une bonne source de nutriments (y compris carbone et fer), et nos différents essais d'utilisation par trempage direct dans la culture ont été positifs, mais ont du être interrompus à cause d'une salissure excessive du milieu (qui aurait nécessité un système d'épuration que nous n'avions pas). Certains expérimentent avec divers purins de plantes. Le jus de compost (« compost tea ») serait une bonne solution, mais là aussi il semble nécessaire de disposer d'un système d'épuration, ne serait-ce que pour libérer les éléments nutritifs contenus dans les nombreux microorganismes de ce jus. En résumé faire de la spiruline à partir uniquement de plantes est possible mais c'est plutôt compliqué. N.B.

- a) Comme l'urine ne contient pas de fer, son utilisation ne dispense pas d'ajouter du fer.
- b) L'urine utilisée doit avoir une odeur et une couleur normales et provenir de donneurs sains et ne prenant pas de médicaments pouvant entraîner une toxicité pour les spirulines, comme les antibiotiques.
- c) On dit que le sang d'animal serait un bon aliment pour la spiruline et qu'on peut l'utiliser à dose relativement importante (50 ml/l de milieu de culture). Attention aux contaminations possibles cependant. Nous n'avons jamais essayé d'utiliser du sang.
- d) Il est parfaitement possible de "panacher" produits chimiques et produits naturels.
- e) L'utilisation d'urine comme engrais unique convient surtout quand l'eau est un peu calcaire (20 mg de calcium/litre) mais pas trop calcaire ; en effet l'apport de calcium et de magnésium par l'urine est un peu faible et un appoint venant de l'eau est le bienvenu, mais tenir compte aussi que l'urine apporte un excès de phosphore trop faible pour compenser une dose forte de calcium.
  - f) La dysenterie se propage par les feces, non par l'urine.

# 7) CONDUITE ET ENTRETIEN DE LA CULTURE

#### Sommaire:

- 7.1) Récoltes
- 7.2) Agitation
- 7.3) Evolution du pH
- 7.4) Ombrage
- 7.5) Niveau d'eau
- 7.6) Fer
- 7.7) Oligoéléments
- 7.8) Comment augmenter la productivité par apport de carbone
- 7.9) Exopolysaccharides (EPS)
- 7.10) Anomalies
- 7.11) Contamination par petits animaux
- 7.12) Contamination par des Droites ou des algues étrangères

- 7.13) Contamination par microorganismes
- 7.14) Empoisonnement chimique
- 7.15) Manque d'oxygène (hypoxie)
- 7.16) Maladies
- 7.17) Métaux lourds
- 7.18) Nettoyage des bassins
- 7.19) Epuration du milieu de culture
- 7.20) Morts subites de cultures

# 7.1) Récoltes

On récolte de manière à maintenir la concentration en spirulines au niveau désiré, par exemple entre 0,3 et 0,7 g/l, pas forcément tous les jours. Si le milieu est trouble, en tenir compte lors de la mesure de concentration au disque de Secchi. En l'absence de récoltes, avec suffisamment de nutriments, la concentration en spiruline croit jusqu'à l'équilibre entre photosynthèse et respiration, correspondant à environ 250 g de spiruline/m² de bassin. Il n'est pas bon pour la culture de rester longtemps sans être récoltée, à très haute concentration : cela peut même être une cause de mortalité pour elle. Inversement il n'est pas bon d'abaisser la concentration en dessous de 0,4 g/l, en tous cas de 0,3 g/l : la productivité est plus forte aux basses concentrations mais la culture y est moins stable, et la spiruline y est produite avec une teneur en phycocyanine moins élevée.

# **7.2) Agitation** (voir § 3.4)

Agitation manuelle : on agite (au moins !) 4 fois par jour, mais la fréquence minimum dépend des conditions et de la souche ; elle augmente avec l'intensité de la lumière et de la flottation. Au milieu d'une journée très chaude, sans ombrage, l'agitation d'une souche flottant fortement doit être très fréquente (au moins deux fois par heure) ou même continue. Cependant il existe des conditions où il peut être préférable de peu agiter car alors la couche supérieure de la culture, plus chaude, produit plus.

Si l'on dispose d'un mode d'agitation électrique sans danger pour les spirulines (par exemple bullage d'air, hélice ou roue à aubes), l'agitation peut être continue (avec quand même un arrêt 15 minutes/heure de préférence). Avec les pompes, il vaut mieux ne pas agiter en continu une souche spiralée (type Lonar), mais seulement 15 minutes/heure. L'agitation continue par pompes d'aquarium ou pompes à vortex est possible avec les ondulées (Paracas).

La nuit l'agitation peut théoriquement être arrêtée, mais quand c'est possible deux ou trois agitations nocturnes sont bénéfiques pour diminuer les risques de grumeaux et améliorer l'oxygénation du milieu (auto-épuration). L'agitation continue nocturne, quand elle est possible, favorise nettement l'auto-épuration du milieu.

La productivité d'une culture intensive dépend fortement de l'agitation, sans que nous soyons encore en mesure de réellement quantifier cet effet. Plusieurs expérimentateurs rapportent des productivités records (jusqu'à 30, voire 40 ou 50 g/jour/m²!) dans des conditions d'agitation excellentes, en général en petits bassins, en tubes ou au laboratoire.

Dans le programme de simulation présenté au chapitre Calcul la convention suivante a été adoptée pour traiter ce problème :

Pour les bassins ordinaires, dont nous avons l'expérience, le degré d'agitation

- est défini par la vitesse moyenne de déplacement de la culture, jusqu'à 30 cm/s)
- Pour des bassins à systèmes d'agitation perfectionnés, on caractérise encore le degré d'agitation par la vitesse, mais il faut la fixer au-delà de 30 cm/s; par convention le modèle multiplie alors la vitesse par 8 (par exemple si l'on fixe la « vitesse » à 40, le modèle appliquera 320), ce qui conduit aux très fortes productivités rapportées par certains auteurs, mais que nous ne croyons pas réalistes dans la pratique.

# 7.3) Evolution du pH

Un bon test de croissance d'une culture est son augmentation de pH. En l'absence de supplémentation en <u>carbone</u> et s'il n'y a pas de carences minérales, pour une alcalinité voisine de 0,1 N, une hauteur de liquide voisine de 20 cm et une concentration en spiruline voisine de 0,4 g/l, avec température et ensoleillement élevés, l'augmentation de pH normale se situe au voisinage de 0,1 unité/jour dans la gamme de pH entre 10 et 10,6. Cependant en présence de matières organiques dans le milieu, celles-ci peuvent s'oxyder en dégageant du CO2, ce qui contrecarre l'augmentation du pH, et peut même provoquer une baisse du pH.

Une autre façon de vérifier que la photosynthèse est active est d'observer le dégagement d'oxygène à la surface du bassin en l'absence d'agitation.

# 7.4) Ombrage

En l'absence de supplémentation en <u>carbone</u> le pH peut monter à 11,5 et plus, mais la spiruline ne peut supporter longtemps un pH supérieur à 11,3 et il est même recommandé de limiter le pH à moins de 10,8. Un demi-ombrage suffit généralement à maintenir le pH en dessous de 11. Si l'agitation est bonne, on peut empêcher la montée excessive du pH sans mettre d'ombrage en maintenant un stock de spiruline élevé (> 150 g/m²), c'est-à-dire une concentration en spiruline supérieure à environ 0,7 g/l pour une hauteur de liquide de 20 cm, ce qu'on peut appeler faire un "auto-ombrage".

L'ombrage est par ailleurs nécessaire quand la température de la culture est trop basse (< 10°C) par grand soleil, sinon la culture peut facilement mourir par photolyse. Il faut par précaution maintenir l'éclairement du bassin en dessous d'une certaine limite qui dépend de trois facteurs simultanés : la température, la concentration en spiruline et la concentration en oxygène dissout. Plus la température et la concentration en spiruline sont basses et plus la concentration en oxygène est élevée, plus il faut modérer l'éclairement pour éviter ou réduire la mortalité des spirulines. Sans qu'on puisse donner des chiffres précis, il est recommandé de maintenir l'oxygène en dessous de 20 ppm et l'éclairement en dessous de 30 klux, surtout si la température est inférieure à 25°C et la concentration en spiruline inférieure à 3 g/litre.

Il faut ombrer aussi pour économiser l'eau en saison sèche, ou si la température a tendance à dépasser 38°C dans la culture.

Une culture sous ombrage est plus facile à récolter et la qualité de la spiruline est améliorée (plus riche en pigments), moyennant une diminution de la productivité qui peut rester modeste.

# 7.5) Niveau d'eau

Veiller à ajouter de l'eau dans le bassin (de préférence le soir) pour maintenir le niveau voulu. Ne pas ajouter plus de 10 % du volume du bassin par jour. Si l'eau d'appoint est très calcaire il se produit des boues minérales dans le bassin et à la longue il est préférable de les éliminer, mais en même temps l'expérience montre que l'eau calcaire a deux avantages : elle apporte un peu de bicarbonate et surtout la précipitation de carbonate de calcium aide à flocculer les impuretés telles que les EPS. L'eau d'appoint contient aussi des sels solubles qui augmentent peu à peu la salinité (de même l'utilisation de nitrate comme source d'azote ou de bicarbonate de sodium comme source de carbone augmente la salinité) ; ceci peut obliger à pratiquer des purges pour empêcher la salinité de dépasser 30 à 50 g/l. Mais l'eau d'appoint (sauf l'eau de pluie) apporte aussi des oligoéléments bénéfiques. Si l'évaporation est notable et si l'eau d'appoint est très calcaire, il y a risque de coprécipitation de phosphate de calcium : surveiller de près la teneur en phosphate du milieu et rajouter du phosphate au besoin.

Dans les bassins ouverts, la pluie est bénéfique tant qu'elle reste modérée (par exemple 10 % du volume du bassin par jour), mais une dilution brusque trop forte du milieu de culture fait tomber les spirulines au fond. En fin de saison des pluies on a intérêt à garder le niveau maximum permis par le bassin (ce qui permettra d'économiser de l'eau en saison sèche). Si la source d'alcalinité n'est pas rare, et/ou si la pluviométrie n'est pas excessive, on peut admettre dans le bassin toute la pluie qui tombe, en veillant à pratiquer à temps des purges de milieu de culture pour empêcher le bassin de déborder ; ces purges se font en récoltant sans recycler le filtrat ou en aspirant le fond pour éliminer des boues, puis en remettant dans le bassin les sels correspondant au volume de milieu de culture éliminé. Ces purges maintiennent la qualité du milieu de culture et lui apportent des oligoéléments contenus à titre d'impuretés dans les sels d'appoint. Si on ne dispose pas de concentré d'Oligoéléments, on peut être amené à pratiquer des purges dans le seul but d'introduire des oligoéléments par l'eau et les sels!

Un niveau d'eau élevé (30 cm ou même plus) réduit les surchauffes en climat très chaud et est probablement utile pour faciliter l'autoépuration du milieu de culture (voir <u>épuration</u>). Un niveau bas est intéressant pour réduire la dépense en milieu de culture, mais nécessite un fond bien plat (avec un point plus creux pour faciliter la récolte du flottant à la bassine ainsi que la vidange), des purges suffisantes pour maintenir la qualité du milieu et une surveillance accrue du pH, de la température et de la concentration en nutriments pour ne pas dépasser les limites autorisées.

En bassin ouvert, si des purges ne sont pas nécessaires pour maintenir la qualité du milieu et si les bords sont suffisamment hauts, le niveau et l'alcalinité varient en cours d'année : s'arranger pour que le niveau minimum soit suffisant et pour que l'alcalinité reste suffisante ( > 0,05) lors du niveau maximum.

La spiruline est un aliment des plus riches en fer. Il faut donc lui en fournir beaucoup, et sous une forme assimilable ce qui n'est pas évident à cause du pH élevé du milieu de culture. Si la spiruline n'est pas assez vert foncé, cela peut être du à un manque d'azote, mais aussi à un manque de fer. Même une spiruline bien verte peut se révéler faible en fer à l'analyse (par exemple 200 ppm). Une concentration en fer insuffisante (par exemple < 0,1 ppm) dans le milieu gêne la coupure des trichomes de spiruline qui deviennent très longs et d'autre part freine la prolifération des bactéries utiles pour nettoyer le milieu.

Parfois, mais rarement, il y a assez de fer dans les sels et/ou l'eau utilisés. Il peut même y avoir trop de fer dans l'eau si elle est ferrugineuse, cas rarement rencontré. Le moyen classique d'introduire du fer est de préparer une solution de fer à 10 g/l de la manière suivante : dans 1/2 litre d'eau mettre avec 50 g de sulfate de fer heptahydraté + 20 ml d'acide chlorhydrique concentré ou, mieux, 100 g d'acide citrique qualité alimentaire (l'acide citrique est un bon chélatant du fer) ; compléter à un litre. [ N.B. La pureté des sulfates de fer vendus pour traiter les gazons est souvent inadéquate: il faut alors filtrer ou décanter la solution ou recourir à du sulfate pur]. L'emploi de 100 ml de solution de fer à 10 g/l par kg de spiruline produite correspond à 1000 ppm de fer. En pratique 50 ml suffisent généralement. On peut aussi faire tremper 50 g de clous rouillés dans un litre de vinaigre additionné du jus de 4 citrons ou caramboles; conserver en récipient non hermétique (dégagement d'hydrogène), en agitant de temps en temps : on obtient au bout de deux semaines un "sirop de clous" à environ 10 g/l de fer, qui peut être utilisé comme source de fer "biologique". Un chélatant comme l'EDTA ou l'acide citrique rend le fer plus assimilable par la spiruline, mais rend également le fer de la spiruline plus assimilable par l'organisme humain (voir Bibliographie : Manoharan). Les jus de citron (contenant de l'acide citrique) et surtout de carambole ont un pouvoir chélatant pour le fer, de même que certains extraits aqueux de terre végétale ou d'argile stérilisés par tyndallisation (portés 10 minutes à 80°C deux fois à 24 heures d'intervalle).

On peut aussi utiliser comme apport de fer des produits commerciaux contenant du fer chélaté, comme le Ferveg, le Fetrilon 13 ou le Ferfol à 13 % de fer chélaté à l'EDTA (ce qui correspond à un atome de fer, soit 56 g, par molécule de sel disodique de l'EDTA cristallisé avec 2 H2O, soit 372 g). Le Séquestrène 100 SG à 6 % de fer chélaté à l'EDDHA, réputé plus efficace que l'EDTA à pH élevé, a l'inconvénient de fortement colorer en rouge le milieu de culture et n'est pas recommandé. Signalons que le Ferfol est agréé "bio" en France (en 2009). Le sang serait aussi une source de fer "biologique" réputée très assimilable (à 9 g/l), mais nous ne l'avons pas essavé.

La dose de fer à apporter est un sujet de discussion. Une dose moyenne de 500 ppm paraît convenable. Il est possible, en cas de besoin, d'obtenir des spirulines extrêmement riches en fer (jusqu'à 5000 ppm).

Plus on ajoute le fer régulièrement plus la teneur en fer de la spiruline sera régulière. Si on n'ajoute le fer (chélaté) qu'une fois par mois, par exemple, la teneur en fer de la spiruline juste après l'ajout sera très forte (par exemple 1000 ppm), alors qu'elle sera faible juste avant l'ajout (par exemple 300 ppm).

Le goutte-à-goutte est le mieux évidemment et il semblerait pouvoir remplacer la chélatation (d'après l'expérience de Koudougou, Burkina Faso). Voici une procédure

convenable : faire une pré-dilution de la solution de fer (100 ml dans 10 litres d'eau), bien agiter et ajouter lentement (si possible au goutte-à-goutte) dans la culture en l'agitant très bien (cette agitation est essentielle).

Un article de Puyfoulhoux B. *et al.* (2001) tend à prouver que la biodisponibilité du fer de la spiruline est équivalente à celle de la viande.

#### 7.7) Oligo-éléments

Au lieu de compter sur l'eau d'appoint et les sels pour apporter les oligo-éléments nécessaires à la croissance de la spiruline, il peut être plus sûr et même plus économique de les apporter par une solution concentrée toute prête (de coût très faible rapporté au kilo de spiruline). L'ajout d'oligo-éléments semble un facteur positif pour assurer une bonne récoltabilité et une bonne productivité de manière plus régulière, mais il améliore aussi la qualité nutritionnelle du produit.

L'apport au moins des oligo-éléments majeurs (bore, cuivre, manganèse et surtout zinc) parait recommandé en cas de faible taux de renouvellement du milieu sur une longue période. Le risque de dépasser la dose maximale permise pour un oligo-élément qui serait déjà présent en quantité notable dans l'eau ou les sels utilisés est faible si la solution d'oligo-éléments est ajoutée au prorata des récoltes, à concurrence par exemple du quart ou de la moitié des besoins théoriques. Il serait plus sûr de n'ajouter que ce qui manque dans le milieu de culture, mais cela obligerait à utiliser des moyens analytiques hors de portée de l'artisan. Il existe différentes formules d'oligo-éléments. La plus citée est celle du milieu Zarrouk (voir Annexe 18) mais elle est inutilement compliquée, tout en étant incomplète...

L'apport de sélénium se fait généralement par le sélénite de sodium, de manipulation délicate car très toxique, que nous préférons éviter (il faudrait pratiquement travailler avec un masque à gaz pour introduire le produit).

Faut-il ajouter du cobalt ? C'est un sujet de discussion lié au fait que la vitamine B12 (la cyanocobalamine, qui contient du cobalt) est abondante dans la spiruline, alors que certains réglements limitent l'ingestion de cette vitamine ; la vitamine B12 de la spiruline serait riche en "analogues de B12" dont il faudrait, selon certains, se méfier. Des éclaircissements scientifiques sur ce sujet sont souhaitables. Jacques Falquet résume très bien l'état actuel des connaissance sur ce sujet important ainsi :

- Une proportion variable (mais forte) de la vitamine B12 présente dans la spiruline est en fait un (ou des) analogue dépourvu d'activité B12 chez l'humain
- Cette proportion varie selon la spiruline analysée ; celle de Hawaï contiendrait 36 % de B12 active
- Les analogues de B12 existent dans de nombreux produits alimentaires et sont naturellement détectables dans le plasma humain
- La vitamine B12 présente dans les comprimés multi-vitamines peut se convertir spontanément en analogues non-assimilables
- La dangerosité réelle des différents analogues de B12 est actuellement inconnue (aucune étude clinique sérieuse)
- La littérature scientifique ne rapporte aucun cas de troubles liés à aux analogues de B12 de la spiruline (plus de 30 ans de consommation de

spiruline dans les pays industrialisés)

 La population du Kanem (ou la spiruline est consommée traditionnellement) ne semble pas affectée de troubles particuliers (or l'anémie pernicieuse est mortelle et ses symptômes sont "spectaculaires")."

De toutes façons le cobalt ne semble jamais être déficitaire dans le milieu de culture. La formule "J.P. Jourdan" omet donc cobalt et sélénium.

Il v a un bon consensus sur l'intérêt d'une dose fortement majorée de zinc ( la formule "J.P. Jourdan" ne prévoit qu'un faible supplément). Un autre moyen d'introduire du zinc, proposé par J. Falquet, est d'ajouter 20 g de sulfate de zinc heptahydraté aux 50 g de sulfate de fer dans la préparation de solution de fer rapportée au § précédent (classique). Une dose de 500 à 1000 ppm de zinc dans la spiruline serait convenable mais de forts ajouts de zinc au milieu de culture peuvent poser de sérieux problèmes ; voici l'avis de Jacques Falquet à ce sujet (2009) : « Nos propres essais nous laissent penser que ce n'est pas si facile d'obtenir de telles teneurs en zinc en enrichissant le milieu de culture : non seulement ce zinc précipite (ou en tout cas n'est pas absorbé par la spiruline au delà d'un certain seuil) mais il présente une toxicité certaine pour la spiruline elle-même. En fait, je pense que les spirulines à très hautes teneurs en fer ou en zinc sont obtenues par traitement post-récolte : ça ne doit pas être bien difficile, vu que la biomasse de spiruline se comporte comme une véritable résine échangeuse d'ions. Il suffirait donc de disperser la biomasse récoltée (et lavée à l'eau salée pour baisser le pH) dans une solution d'un sel métallique adéquat et laisser incuber quelques minutes. Après nouvelle filtration, lavage, pressage et séchage on obtiendrait sûrement le produit voulu » Si l'on ne dispose pas d'une source fiable de sels ou oxyde de zinc, on peut essayer d'en fabriquer en attaquant du zinc métal par un acide, mais il y a le danger que le métal contienne trop de plomb.

Il y a un peu de nickel dans la spiruline, mais on ignore si ce métal doit être considéré comme un oligo-élément bénéfique ou s'il est simplement absorbé: il n'a pas été inclus dans la formule "J.P. Jourdan" en raison de risques possibles de toxicité sur l'homme.

Quelle doit être la pureté des sels éventuellement utilisés pour apporter les oligoéléments ? La qualité "technique" est jugée suffisante, compte-tenu des petites quantités utilisées. Inutile d'avoir recours aux puretés de type "pour analyses".

Dans les pays où l'accès aux produits chimiques nécessaires est impossible on pourra renoncer à ajouter des oligo-éléments, sauf le zinc qui mérite qu'on fasse beaucoup d'efforts pour s'en procurer.

# 7.8) Comment augmenter la productivité par apport de carbone

L'aliment principal de la spiruline est le carbone dont la source normale est le gaz carbonique. La méthode de culture la plus simple, où la nourriture carbonée vient de **l'air** (qui contient du gaz carbonique, mais extrêmement dilué), présente une productivité modeste, mais qui, exprimée en protéines, reste très supérieure à celle des meilleures cultures agricoles ou horticoles, et qui, exprimée en calories alimentaires, leur est équivalente, et ceci sans consommer plus d'eau, ou même nettement moins. L'absorption du CO2 atmosphérique se fait nuit et jour, indépendamment des variations quotidiennes du temps, lequel n'influe donc pas sur

la productivité moyenne de ces cultures ; cette dernière n'est pas non plus affectée par une température exagérée la nuit (le pH baisse à cause de la respiration nocturne, mais sans perte de CO2, qui sera utilisé plus tard). Dans ces cultures on maintient le pH vers10,6 ou moins en jouant sur l'ombrage. A noter que chaque année la teneur en CO2 de l'air augmente (elle atteint 385 ppm en 2007), ce qui favorise la spiruline. La productivité obtenue à partir de l'atmosphère plafonne autour de 4 g/jr/m² si la surface d'absorption est limitée à la surface de bassin, mais il est possible de l'améliorer en augmentant la surface de contact entre culture et atmosphère, par exemple en faisant des vagues mais surtout en adjoignant au bassin une colonne d'absorption : cette colonne, remplie d'anneaux Raschig ou autres, est arrosée par de la culture à pH disons10,5 et alimentée à sa base par de l'air atmosphérique tandis que la culture sort en bas de colonne à pH par exemple 10,4 et retourne au bassin. Mais il est plus que probable qu'une telle colonne soit plus chère qu'une surface de bassin supplémentaire donnant la même augmentation de production (à étudier cas par cas).

Si l'atmosphère du bassin communique avec une **source de CO2** dans l'air, comme un compost en fermentation, une étable, une combustion de gaz propre ou encore une source d'eau gazeuse, le pH du bassin par beau temps sera plus bas et la productivité augmentera sensiblement. Le cas des gaz de combustion est traité quantitativement dans le programme de simulation en Annexe.

Mais il est aussi possible d'augmenter la productivité par beau temps, de la faire passer par exemple à 12 ou 15, voire 20 g/jour/m², si l'agitation est suffisante, en injectant du gaz carbonique pur directement dans la culture pour baisser son pH à 10 ou moins. La consommation de CO2 est de l'ordre de 2 kg/kg de spiruline (théorie = 1,71). Le gaz est amené sous un morceau de film plastique tendu sur un cadre flottant sur le bassin, formant comme une "cloche" ou une "tente" quand le gaz s'y accumule. La surface du cadre flottant doit être de 3 % de la surface du bassin. On règle le débit de gaz pour ne pas en perdre trop par les bords du cadre. Eviter l'entrée de bulles d'air et purger une fois par jour l'oxygène qui s'accumule sous le plastique. On a intérêt à faire buller le gaz au fond du bassin à travers un diffuseur donnant des bulles très fines, ou même au bas d'un puits pratiqué au fond du bassin (si la hauteur de barbotage est supérieure à 30 cm on peut se passer de la cloche flottante en film plastique). A noter qu'on obtient un meilleur rendement d'absorption du CO2 la nuit en raison de l'absence de dégagement d'oxygène dans le milieu de culture. Une autre façon d'injecter le gaz est de l'introduire dans un venturi à la sortie d'une pompe et de faire parcourir à l'émulsion un ou deux mètres de tuyau.

Si l'on ne dispose pas de gaz carbonique en cylindres mais d'une **fermentation** alcoolique à proximité du bassin de spiruline, il est assez facile de capter le gaz carbonique pur produit par la fermentation, mais sa pression sera trop faible pour passer à travers un diffuseur et la surface du cadre flottant devra être majorée de moitié, à moins d'utiliser un compresseur d'aquarium ou une pompe d'aquarium munie d'un dispositif aspirant émulsionneur de gaz.

Un site Internet canadien décrit en détail comment alimenter une serre horticole en CO2 : <a href="http://www.omafra.gov.on.ca./french/crops/facts/00-078.htm">http://www.omafra.gov.on.ca./french/crops/facts/00-078.htm</a>.

Au lieu de gaz carbonique on peut utiliser du **bicarbonate de sodium**, mais alors il faudra pratiquer des purges pour maintenir la salinité à un niveau acceptable (densité voisine de 1015 g/l) et rajouter les éléments du milieu de culture (autres que le bicarbonate de sodium) correspondant au volume purgé. Il faut environ 2 à 6 kg de bicarbonate de sodium par kg de spiruline, selon la productivité souhaitée. Cette méthode est très pratique ; elle évite notamment d'avoir à surveiller le pH. Les purges prévues au § 7.5 (<u>niveau</u>) comptent dans le total des purges à effectuer. On peut simplifier la procédure de purge en incluant dans la nourriture des spirulines les sels perdus dans la purge : il suffit alors de remplacer le volume purgé par le même volume d'eau ; la formule de nourriture fournie par les programmes de calcul en Annexes A27 et A30 est établie sur cette base. La pratique des purges demande des précautions vis-à-vis de l'environnement (voir § 4.5 dans <u>Epuration</u>).

On sait que la productivité est fonction inverse du pH, toutes choses égales par ailleurs. On sait aussi que la photosynthèse consomme du CO2 et fait monter le pH. On rajoute donc du bicarbonate de sodium pour compenser le CO2 consommé :

2 NaHCO3 = Na2CO3 + CO2 + H2O

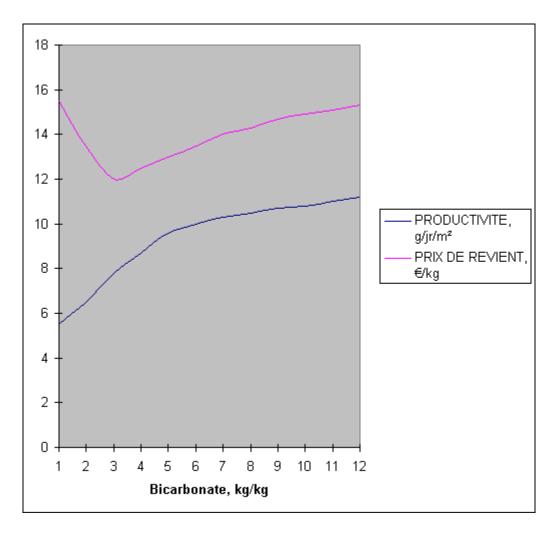
Ce faisant on accumule du carbonate et on augmente la salinité du milieu et il vient un moment où il faut purger du milieu trop salé en le remplaçant par du milieu neuf, et ensuite on maintient les conditions de salinité et de pH par ces purges. Notons que ces purges sont au pH qu'on désire maintenir dans le bassin. Par exemple si on veut pH 10, la purge contiendra autant de bicarbonate de sodium que de carbonate. On comprend que plus on veut travailler à un pH bas, plus on consommera de bicarbonate de sodium. Plus la productivité est forte, donc, plus la consommation de bicarbonate de sodium (et la quantité de rejets minéraux) va être élevée.

Illustrons ce fait par un petit calcul pour une marche à pH 10 qui correspond à la productivité maxi (en dessous de 10 on n'améliore plus la productivité), pH où il n'y a pas d'absorption de CO2 atmosphérique (ce qui simplifie considérablement le calcul). On sait qu'à ce pH le milieu de culture contient 7 moles de CO2 pour 10 moles de soude sous forme de bicarbonate de sodium + carbonate de sodium. En marche stable il n'y a pas d'accumulation de soude dans le milieu (les purges équilibrant les apports), donc un bilan molaire entrée/sortie autour du bassin donne :

- Entrée : 1 bicarbonate de sodium (= 84 grammes) = 1 CO2 +1 NaOH
- Sortie par la purge : 0,7 CO2 + 1 NaOH
- CO2 sortant avec la spiruline produite : 1 0.7 = 0.3 CO2, d'où spiruline produite =  $0.3 \times 44/1.8 = 7.33$  grammes (en effet 1 mole de CO2 pèse 44 g et il faut 1.8 g de CO2/g de spiruline)
- D'où consommation de bicarbonate de sodium : 84/7,33 = 11,5 g/g de spiruline

En utilisant le logiciel de simulation (voir <u>CALCULS</u>), on peut établir la relation entre productivité et consommation de bicarbonate de sodium, et trouver l'optimum économique :

Par exemple le graphique ci-dessous a été établi pour Koudougou avec un prix de bicarbonate de sodium de 0,5 €/kg ; il montre un net optimum de prix de revient à 3 kg de bicarbonate de sodium/kg, moyennant une limitation de la productivité à 8 g/jr/m² :



Il faut bien voir la souplesse de marche dont on dispose : si le marché réclame plus de spiruline on peut pousser les feux en attendant que de nouveaux bassins soient construits. Inversement s'il y a des surcapacités, on peut baisser ou même supprimer l'apport de bicarbonate de sodium (mais dans ce cas, s'il n'y a pas d'ombrage le pH va s'établir au-dessus de 11 par beau temps, ce que n'apprécie pas vraiment la culture).

Si l'évaporation est notable et si l'eau d'appoint est **très calcaire**, du carbonate de calcium précipite et se retrouve dans les boues, et cela a pour effet de réduire les purges et de diminuer la consommation de bicarbonate de sodium, moyennant une augmentation de la quantité de boues minérales qui, elles, devront être éliminées ; dans ce cas de figure il y a risque de coprécipitation de phosphate de calcium : surveiller de près la teneur en phosphate dans le milieu et rajouter du phosphate au besoin.

La proximité d'un **lac naturel sodique** offre une intéressante possibilité : celle d'y envoyer les purges et d'y puiser de quoi les remplacer. En général les lacs sodiques sont à un pH voisin de l'équilibre avec l'air, c'est-à-dire proche de 10. Le pompage d'eau du lac dans la culture à pH 10,5 lui apporte donc du CO2. L'eau du lac doit être filtrée (par exemple sur filtre à sable) avant d'être admise dans la culture, pour ne pas risquer de la contaminer. Si sa composition n'est pas correcte pour la spiruline, il convient de la corriger par les apports nécessaires (en général ce sera de l'urée et du fer) et de la diluer si sa salinité est trop élevée. Les purges recyclées au lac y sont

épurées biologiquement par un processus naturel. Le fait de disposer de CO2 pratiquement gratuit permet de faire des apports de carbone importants et de pousser la productivité par beau temps facilement à 12 g/jour /m² (moyennant un pompage dans le lac de l'ordre de 3000 litres par kg de production, pour une salinité de l'ordre de 13 g/l).

Le sucre constitue une autre possibilité d'introduction de nourriture carbonée (voir Jourdan (1996) dans la bibliographie). Sa consommation théorique, en l'absence d'autres sources de carbone, est de 1,11 kg/kg. Le poids de sucre qu'un bassin est capable d'oxyder dans la journée est du même ordre que sa production de spiruline : c'est la dose à ne pas dépasser de toutes facons. Ajouter le sucre le matin, les jours de beau temps seulement, afin de ne pas provoquer d'odeurs de fermentation, un mauvais rendement de transformation du sucre en CO2 et une production de boues flottantes excessives (voir § 7.15 : boues), surtout si le milieu contient d'autres matières organiques. Pour que le sucre puisse fermenter en produisant du CO2, il est souvent nécessaire que le pH soit inférieur à 10,8 (mais j'ai vu au moins une fois le sucre baisser rapidement le pH d'une culture qui avait atteint 11,1). Si les ferments ont été stérilisés par un pH trop élevé, réensemencer la culture avec un "levain" prélevé sur un autre bassin. Commencer à "sucrer" dès que le pH atteint 10,4 ; il faut deux jours pour en voir l'effet ; régler ensuite l'apport de sucre pour maintenir le pH autour de 10,4; une dose moyenne de 0,6 kg/kg de spiruline suffit en général, par beau temps. En fait il est recommandé de ne pas dépasser la dose de 6 q de sucre/m²/jour de beau temps (et même de préférence 3) si l'on veut éviter des effets secondaires indésirables comme une turbidité excessive du milieu de culture et des difficultés de récolte pouvant aller jusqu'à l'impossibilité d'essorer la biomasse par pressage, surtout en début de période de sucrage. Ces difficultés peuvent provenir d'un manque d'azote (provoquant une surproduction d'exopolysaccharides) du à la consommation d'azote par les ferments ; en début de sucrage, il est donc bon de majorer l'urée. La teneur en protéines de la spiruline obtenue avec le sucre est rigoureusement identique à celle d'une production au CO2.

Le sucre pur doit pouvoir être remplacé avec profit par de la canne à sucre écrasée, à raison de 7 kg/kg de sucre (laisser tremper la canne une journée ou plus dans le bassin puis la retirer) ou par du jus de canne, mais nous n'avons pas essayé ces méthodes. Eviter d'utiliser la mélasse, trop impure ; par contre le miel ou le glucose pur seraient excellents s'ils étaient moins chers. Le sucre peut aussi être apporté par divers produits en contenant comme le petit lait (ne pas dépasser la dose de 4 litres par kg de spiruline, surtout que le petit-lait est riche en azote). Il peut aussi être remplacé par des feuilles de plantes fraîches : des feuilles vertes mises à tremper dans la culture (dans un filet de préférence) subissent une attaque par le milieu basique qui dissout en quelques jours tous leurs éléments sauf la cellulose, ce qui constitue un moyen de nourrir la spiruline en carbone et aussi en éléments minéraux. Les feuilles doivent être d'espèces végétales choisies pour leur non-toxicité et leur facilité de "dissolution"; choisir de préférences des plantes comestibles mais peu prisées donc bon marché comme l'ortie, l'amarante ou le chénopode. Nous hésitons à recommander cet usage des feuilles parce que nous avons remarqué qu'il se forme des points noirs non identifiés dans certaines cellules des feuilles : plus de recherche est nécessaire. A noter que le sucre et les feuilles à forte dose provoquent une augmentation de la turbidité du milieu, dont il faut tenir compte lors de la mesure de la concentration par le disque de Secchi. Une telle culture est moins "propre" : plus de boues, filtration moins rapide, et risque plus grand de microbes pathogènes devenus résistants aux pH élevés.

Le remplacement du sucre par le glucose permet théoriquement de réduire les inconvénients du sucre. Le glucose est en effet réputé être directement assimilable par la spiruline ou bien il peut être directement oxydé par l'oxygène de photosynthèse : les ferments deviendraient inutiles, d'où une culture plus "propre" et filtrant mieux, et possibilité de travailler à pH > 10,8 si on le désire. La seule fois où nous avons voulu utiliser du glucose commercial pur à la dose de 1 kg/kg il s'est en fait comporté à peu de chose près comme le sucre ; au bout de 15 jours le pH était bien maintenu à 10 mais la turbidité du milieu de culture était montée à Secchi noir = 6 cm (la filtration restant facile). Cette turbidité disparaît quelques jours après la réduction ou la suppression de l'ajout de glucose. Il semble que le glucose renforce la santé de la spiruline.

Il faut mentionner l'apport non négligeable en CO2 de **l'urée**, qui est même la source de CO2 la moins chère. Voir au § 6, N.B. c les <u>précautions</u> d'emploi indispensables.

Rappelons qu'en cas de nourriture de la spiruline par **l'urine**, celle-ci apporte du carbone supplémentaire équivalent à 2 g de spiruline/jour/m².

Les boues de fond de bassin elles-mêmes sont petit à petit oxydées (surtout si on prend la précaution de brosser le fond et les bords du bassin quotidiennement), contribuant ainsi à apporter, ou plutôt à recycler, du CO2.

Enfin mentionnons qu'il est parfaitement possible de panacher les différentes sources de carbone.

D'une manière générale il est recommandé de ne pas chercher à maintenir des productivités records, parce qu'elles augmentent la vitesse de salissure du milieu de culture et, semble-t-il, la fréquence des mutations ; à faible productivité le milieu a plus de possibilité de s'autopurifier. De toutes façons, les aléas du temps et la faiblesse de l'agitation font que la productivité moyenne ne dépasse généralement pas 7 g/jour/m² sur une saison de production.

# 7.9) Exopolysaccharide (EPS)

La spiruline sécrète un exopolysaccharide sulfaté (une espèce d'alginate). Hypothèse : l'EPS à bas poids moléculaire est peu à peu relâché dans le milieu de culture où il se dissout d'abord puis polymérise progressivement en micelles de plus en plus grosses, puis en peaux ou grumeaux jaune-bruns de taille variable, microscopiques (visibles au microscope après coloration du milieu à l'encre de Chine, l'EPS ne se colorant pas) ou même visibles à l'oeil nu ; quand le milieu se concentre en EPS, sa solubilité diminue et il se forme comme une gaine d'EPS à la surface externe des spirulines. Les grumeaux ou peaux d'EPS peuvent boucher les pores des filtres et ralentir considérablement la filtration ; légèrement plus denses que le milieu de culture, ils peuvent se déposer au fond du bassin sous forme de boues, puis finalement s'en détacher en se chargeant de bulles de gaz de fermentation et flotter. Le tamis de récolte arrête les amas d'EPS suffisamment gros. La production normale d'EPS à bas pH et sous forte lumière est de l'ordre de 30 %

de celle de la spiruline, mais il semble se former encore de l'EPS à des pH très élevés ; s'il y a carence d'azote, la photosynthèse produit exclusivement de l'EPS (Cornet J.F., 1992). Même en présence de nitrates, la carence en ammonium parait favoriser la formation d'EPS, si les conditions de luminosité et de température sont insuffisantes pour la réduction des nitrates. En présence d'ammonium la protéinogénèse est ralentie par une température insuffisante, mais moins qu'avec nitrates seuls. La carence en fer semble aussi gêner la protéinogénèse et donc favoriser l'EPS. D'après le rapport Melissa 2004, page 199, une concentration en azote ammoniacal supérieure à 65 ppm avec un éclairement supérieur à 33 W/m<sup>2</sup> (niveau très faible !) favorise la formation d'EPS et la formation de grumeaux ; de fait chez Cédric Lelièvre en juillet 2005 des grumeaux se formaient dans une culture à 2,5 g de KNO3 + 80 mg d'ammonium, bien ensoleillée. Pour lutter contre l'excès d'EPS et les grumeaux il faut de l'ammonium, mais pas trop (une dose de 3 à 15 ppm est convenable) et éviter que le pH soit inférieur à 10,2. L'idéal serait d'alimenter en urée (ou ammoniaque) au goutte-à-goutte.On a souvent constaté que l'ajout brutal d'ammoniaque à une culture souffrant d'un excès d'EPS (filtration et/ou pressage difficiles) est un moyen rapide d'améliorer l'état de cette culture. Les quantités d'ammoniaque à 22°Bé (soit 20,5 % de NH3) permises dépendent fortement du pH : 0,25 ml à pH 10 et 0,17 ml/litre à pH égal ou > à 10,3 (pour donner une concentration de 30 ppm de NH3 libre dans un milieu n'en contenant pas au départ). Pour mieux lutter contre les EPS on a tendance à utiliser un excès d'urée ou d'ammonium, lequel est oxydé en nitrate. Au bout de quelques mois on peut alors mesurer dans le milieu des teneurs de 5 à 10 g de nitrates par litre! Mieux vaut apporter l'azote par moitié sous forme ammoniacale (urée) et nitrate, sans excès : c'est ce qui se pratique avec succès à la ferme de La Mé en Côte d'Ivoire. Comme le nitrate est plus cher et parfois non disponible, on peut essayer de se contenter de réduire l'excès d'urée.

Il est évident qu'une production forte d'EPS est gênante, non seulement parce que c'est une perte de rendement, mais parce qu'elle salit le milieu de culture et conduit à des difficultés de récolte.

L'EPS est biodégradable plus ou moins rapidement selon les circonstances, ce qui limite la quantité qui se retrouve dans la spiruline récoltée. Une spiruline à 60% de protéines contiendrait 30% d'EPS (Rapport Melissa 1996, page 90). La biodégradation de l'EPS est favorisée par la pratique du brossage quotidien du

fond et des côtés du bassin.

L'ajout d'ions calcium provoquant la précipitation de carbonate de calcium permet une certaine élimination des EPS par floculation.

La présence d'une certaine quantité d'EPS parait faciliter la récolte. Avec une souche spiralée, l'excès d'EPS entraîne parfois la floculation de spirulines avec formation de peaux ou grumeaux verts flottants. Ces derniers, lors de la récolte sont facilement retenus par le tamis sur lequel ils se rassemblent en agglomérats faisant immédiatement "la boule": s'il n'y a pas simultanément de boues flottantes, on peut les joindre à la biomasse récoltée en les tamisant à l'aide de l'extrudeuse en remplaçant sa filière par un tamis ; la qualité de la spiruline ainsi récoltée est un peu moins bonne que la normale (une analyse faite en juin 1999 sur le produit séché a donné 52 % de protéines et un peu trop de microorganismes aérobies). On pourrait

craindre que la formation de grumeaux augmente le % de droites : l'expérience, lors d'une énorme production de grumeaux (octobre 1999) nous a montré que non. L'augmentation du pH et de la température, l'ajout de fer (s'il y a carence) et surtout l'ajout d'urée ou d'ammoniaque combattent efficacement ces peaux et grumeaux ; suivre la règle : "forcer l'urée s'il y a des grumeaux verts ou des peaux flottantes, baisser l'urée s'il y a odeur d'ammoniac". Une brusque dilution et/ou une brusque diminution du pH peuvent aussi provoquer la floculation des spirulines spiralées en grumeaux verts flottants.

Un excès d'EPS conduit à des spirulines collantes aptes à boucher les pores des filtres, et à une impossibilité d'essorer la biomasse par pressage, alors qu'un défaut d'EPS semble conduire à une biomasse facilement essorable.

Les peaux d'EPS peuvent être confondues avec des amas d'algues étrangères comme la microcystis très toxiques, d'où nécessité de faire des tests de toxicité en cas de doute, bien que nous n'ayons jamais vu de cas de toxicité avérée.

Des publications semblent montrer que les polysaccharides (endo et/ou exo) de la spiruline ont des propriétés thérapeutiques intéressantes : en attente de confirmation.

# 7.10) Anomalies

En cas de faible croissance alors que tout est bien par ailleurs, il est bon de vérifier la teneur en phosphate du filtrat et, si elle est faible, de rajouter du phosphate ; et si on n'a pas de test phosphate on peut tenter de rajouter du phosphate pour ranimer la croissance. Ceci s'applique essentiellement si l'eau utilisée est très calcaire, car le phosphate de calcium a tendance à précipiter.

Si une culture vire au brun-jaune kaki sans que la photosynthèse s'arrête, il y a certainement un manque d'azote. L'excès de lumière, surtout à froid ou en l'absence d'agitation, ou encore à trop faible concentration en spiruline, ou le maintien d'un pH > 11,3 sur une période longue produisent une décoloration, puis la destruction progressive de la spiruline. Si trop de spirulines ont été cassées, ou détruites, le milieu de culture devient sale (trouble, moussant jaune, ou un peu visqueux, ou "blanc" comme du lait dilué, ou au contraire brun, ou malodorant), fermente (dégagement de bulles même la nuit) et/ou la filtration et/ou le pressage lors des récoltes deviennent difficiles, voire impossibles. En général la culture peut guérir d'elle-même en une à trois semaines, de préférence au "repos" dans des conditions de lumière et de température douces, à condition qu'elle ne soit pas carencée (en azote et en fer notamment). La pratique des purges du milieu peut aider à la récupération de la culture : un réensemencement est particulièrement efficace. Si le redémarrage ne se fait pas, le milieu est probablement devenu toxique pour les spirulines : vidanger. Une vidange totale de temps en temps est un moyen puissant, mais coûteux, pour éviter des anomalies de culture.

Si la culture contient beaucoup de spirulines cassées en petits fragments, cela peut être du à un excès de lumière (surtout matinale) ou à une agitation trop brutale, ou encore à un manque de potassium. Des spirulines anormalement longues peuvent être signe d'un manque de fer, à moins qu'il s'agisse d'une culture en croissance très faible.

Les spirulines de certaines souches (spiralées par exemple) flottent habituellement fortement à la surface du milieu de culture, tandis que d'autres (ondulées, droites) restent plus volontiers dans la masse de la culture (mais flottent quand même normalement). Si les spirulines tombent au fond du bassin, c'est souvent le signe qu'elles sont sous-alimentées en azote ou en fer; un changement brusque de pH ou de salinité peut aussi faire tomber les spirulines au fond, par exemple une grande pluie qui double le volume d'eau. Une température très basse a le même effet. Les spirulines au fond du bassin sont en grand danger de mourir et de se transformer en boues organiques brunes : pour augmenter leurs chances de survie il faut les remettre en suspension le plus fréquemment possible. De même la partie supérieure de la couche flottante est en danger de mort par photolyse (brunissement ou blanchiment) en cas d'ensoleillement trop fort et trop prolongé sans agitation suffisante.

Les spirulines spiralées ont assez souvent tendance à s'agglomérer en grumeaux verts lorsque la production d'EPS est abondante ; ces grumeaux flottent s'ils sont très riches en spirulines, contrairement aux boues brunes d'EPS. Mais si la proportion de spirulines dans les grumeaux est faible par rapport à l'EPS (grumeaux de couleur tirant vers le brun), ils ne flottent plus et peuvent rester entre deux eaux et gêner la récolte en colmatant rapidement le tamis.

Il peut arriver que la spiruline elle-même (y compris de type ondulé) flocule en minigrumeaux verts (comportant peu d'EPS) sous l'effet de particules minérales très fines comme du carbonate de calcium en cours de précipitation ou bien d'un excès de certains ions. Une dilution du milieu peut alors s'avérer bénéfique.

Pour contrer la tendance aux grumeaux il est prudent aussi d'agiter le bassin 2 ou 3 fois en cours de nuit.

Des boues brunes remontent à la surface, et flottent passagèrement en période de photosynthèse active, surtout quand on agite le fond, mais normalement elles retombent au fond avant le lendemain matin. On peut les éliminer par tamisage (épuisette ou filet). La flottation nocturne de ces boues est due à la fermentation anaérobie d'une couche de boues trop épaisse et manguant d'oxygène (hypoxie, anoxie), situation qui demande plusieurs jours pour se guérir (agiter plus fréquemment les boues, et/ou en enlever la majorité). Le remède recommandé est de transférer le bassin dans un autre et de le nettoyer. Les boues sont un mélange de minéraux insolubles (carbonates et/ou phosphates), de produits de décomposition de spirulines mortes (contenant de la chlorophylle A et surtout des caroténoïdes qui donnent aux boues une couleur brune caractéristique), d'EPS et de microorganismes biodégradeurs; on y trouve aussi des filaments apparemment incolores, de diamètre beaucoup plus petit que les spirulines (évalué à 1,5 microns), mais de longueur généralement supérieure. Une observation sous fort grossissement permet de distinguer des cellules dans ces filaments, qui apparaissent parfois verts ; il pourrait donc s'agir d'une cyanobactérie dénommée Phormidium. On n'a jamais détecté de toxicité sur des échantillons contenant ces filaments avec le test aux artémias. L'apparition de ces filaments "incolores" se fait très vite dans les agglomérats

contenant des résidus de spiruline morte, et ceci même en eau douce : si on met de la spiruline dans de l'eau douce, elle ne survit pas longtemps et se décompose en boues brunes constituées de "pelotes" de filaments incolores très serrés.

La couleur des boues des bassins tire parfois sur le rose, mais elle est en général brune, couleur carotène.

On trouve aussi fréquemment dans les boues des cristaux en aiguille, souvent rassemblés en faisceaux: il s'agit de phosphate mixte d'ammonium et de magnésium, soluble en milieu acide ; il arrive que ces cristaux soient entraînés dans la couche flottante de spiruline et récoltés avec elle, mais ils se redissoudront sous l'effet de l'acidité stomacale. Pour empêcher la formation de ces cristaux, il faut éviter des doses trop fortes de phosphate, magnésium et/ou ammonium.

Une mauvaise odeur correspond généralement à un mauvais état ou à une récolte insuffisante, ou à une fermentation anaérobie ou encore à une addition excessive d'urée, de sucre ou d'urine. Une odeur modérée d'ammoniac, correspondant à 20-30 ppm d'ammoniac dans le milieu, n'est pas grave mais alerte sur un danger imminent possible. L'usage de sucre comme apport de carbone provoque parfois des odeurs de ferments ou de levures pas réellement désagréables. Une culture de spiruline en bonne santé et à température idéale dégage souvent une odeur aromatique caractéristique et agréable, tirant sur le géranium ou la rose.

## 7.11) Contamination par petits animaux

Sauf protection complète du bassin, il est inévitable que des insectes ou parfois de petits animaux (serpents, lézards, grenouilles, souris, escargots), des feuilles et autres débris végétaux tombent dans le bassin. On peut les enlever avec un filet, mais si on les laisse, ce qui n'est pas recommandé, ils finiront par être "digérés" par le milieu de culture et servir de nourriture à la spiruline.

Par contre certains vers et insectes sont capables de vivre dans le milieu de culture en parasites. C'est le cas des larves de la mouche Ephydra (petite mouche brune qui marche sur l'eau), des larves de moustiques, du zooplancton (rotifères, spécialement brachyonus, cyanophages et amibes capables de manger les spirulines), qui s'installent et vivent un certain temps dans le bassin: pour hâter leur disparition on peut monter momentanément le pH jusqu'à pH 12 puis maintenir ce pH pendant une nuit, en ré-acidifiant le matin à pH 10 ; mais ce choc de pH peut tuer aussi une partie des spirulines qui doivent ensuite être mises en convalescence (ombrées). Ce choc de pH n'est guère efficace sur les amibes. Parfois il suffit d'une brusque augmentation de la salinité de 3 g/l pour faire disparaître les envahisseurs (spécialement les larves). On peut aussi monter la température à 40°C (avec pointes à 44°C). L'addition d'une forte dose d'ammoniac, par exemple 100 ppm, tue larves et amibes mais aussi une partie des spirulines... Finalement la meilleure façon de supprimer les larves est de les éliminer physiquement en les récoltant à l'aide d'une nasse de maille 300 µ placée en travers du courant de culture.

La disparition des amibes se fait généralement de manière naturelle en quelques jours de beau temps par bonne température et croissance rapide de la spiruline ; le maintien d'une concentration en spiruline pas trop élevée et d'une bonne agitation favorise la disparition des amibes. En fait les amibes ne semblent cohabiter avec les spirulines que lorsque ces dernières sont affaiblies ou en croissance nulle. Par exemple dans un échantillon d'une culture en bon état, on peut voir apparaître des amibes au bout de 24 heures de stockage en laboratoire.

De même les rotifères ne peuvent en principe pas envahir une culture en bonne santé.

En cas d'infestation par des larves, des cyanophages ou des rotifères, la récolte reste possible car ils sont arrêtés par le tamis (ajuster au besoin la maille du tamis: pour les brachyonus il faut une maille de 120 µ); on peut essayer d'éliminer au maximum les larves et nymphes au tamis, ou de placer le bassin sous serre étanche ou moustiquaire. Parfois L'infestation par des larves dépend du lieu, du climat. Elle peut n'être que transitoire. Certaines années, elle ne se produit pas. Sous serre, le risque d'infestation est réduit ou annulé (les orifices d'aération et les portes de la serre doivent être munies de moustiquaires pour cela). Nous n'avons jamais eu de rotifères à Mialet, mais nos collègues indiens en ont eu assez souvent. A noter que les rotifères ne sont pas toxiques et ne mangent pas la spiruline spiralée en bonne santé, mais par contre se développent rapidement en cas de mauvaise santé de la spiruline et finissent par envahir la culture en lui donnant une coloration rougeâtre. Les rotifères sont très souvent présents dans les cultures à ciel ouvert, en petit nombre, et contribuent à éliminer les chlorelles et aussi les spirulines droites. Ripley Fox explique que les amibes éventuellement présentes dans une culture ont une probabilité quasi nulle d'être toxiques. Par précaution, cependant, il est recommandé de ne pas consommer fraîche la biomasse provenant d'une culture contenant des amibes. Lors du séchage à 65°C elles sont tuées de toutes facons. N.B.:

- 1) les moustiques mâles issus des bassins de spirulines seraient stérilisés par le haut pH de la culture (selon une étude indienne) et les bassins constitueraient alors un moyen de lutte biologique contre les moustiques ; cette information est cependant mise en doute par le fait que des moustiques proliféraient dans le lac Nakuru avant l'introduction de tilapias justement pour les combattre, alors que ce lac était plein de spirulines mais cohabitant sans doute avec d'autres algues...
- 2) le zooplancton et les larves que nous avons vu cohabiter avec la spiruline n'étaient pas toxiques pour l'homme.
- 3) les larves de moustique et les rotifères mangent les spirulines droites, mais pas les spiralées type Lonar.

# 7.12) Contaminations par des droites ou des algues étrangères

# A) Droites

Des "spirulines droites" apparaissent fréquemment dans les cultures. Elles ressemblent aux cyanobactéries Oscillatoria, dont il existe des variétés toxiques (voir alinéa B suivant), mais nous avons vérifié que les "droites" que nous avons eues jusqu'ici sont bien des spirulines (*Arthrospira platensis*), d'ailleurs de composition normale, non seulement en utilisant des critères dimensionnels et morphologiques, nuance de couleur, etc., et en vérifiant leur teneur en acide gamma-linolénique (très nettement supérieure à celle des Oscillatoria) et leur teneur en acide alpha-linolénique (très présent chez le majorité des cyanobactéries et absent chez

Arthrospira), mais aussi d'après une étude des "empreintes génétiques" par l'Université de Genève (voir Bibliographie : Manen) téléchargeable à partir de http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/52/3/861.

Les spirulines droites flottant moins, ou moins vite, que les spiralées, on peut essayer de contrer leur prolifération en ne récoltant pas la couche flottante mais en récoltant la culture homogène et en gérant la culture pour réduire le taux de croissance des droites. Une bonne agitation évite la photolyse des spiralées, les plus flottantes donc les plus exposées au soleil, donc elle permet de réduire la prolifération des droites. Lorsqu'il y a peu de droites, la couche flottante peut les contenir toutes et on peut donc la récolter ; mais au-delà d'un certain % de droites, ce n'est plus le cas. En cas d'infestation avancée, on peut essayer une réduction de l'agitation et un réensemencement massif en spiralées flottantes.

Un petit programme de simulation mathématique (voir chapitre Calcul) permet d'appréhender l'influence de divers facteurs sur l'apparition (en général brusque) des droites dans une culture jusque là majoritairement spiralée.

Les spiralées ayant une tendance marquée à s'agglomérer en grumeaux dans certaines conditions (bas pH, basse température, absence d'ammonium), on pouvait craindre que la formation de grumeaux augmente le % de droites : l'expérience nous a montré, lors d'une énorme production de grumeaux en octobre 1999, que ce n'était pas le cas.

Les droites sont génétiquement de vraies spirulines mais elles ont des inconvénients dont, souvent, une difficulté notoire à se récolter. Le problème n'est pas d'aujourd'hui puisqu'il y a près de 40 ans Félix Busson bataillait déjà avec lui :

Au Colloque de Florence sur la Spiruline, 1980, BUSSON disait :

"Des formes droites apparaissent spontanément dans des cultures axéniques de spiruline. Nous avons séparé ces formes droites provenant aussi bien de *Spirulina platensis* que de *Spirulina maxima*. Depuis onze ans elle continuent à se reproduire droites."

Les "Petites Nouvelles de la Spiruline" de novembre 2002 disaient :

"Les spirulines droites vaincues?

□ Un mèl de Jean-Denis N'Gobo, de Bangui, du 4/11/02 donne une très bonne nouvelle : « ça y est, nous n'avons plus que des spiralées dans nos 3 bassins »

☐ Un téléphone de Pierre Ancel le 8/11/02 nous annonce qu'à Koudou	gοι
(Burkina Faso) les spirulines de souche spiralées type Lonar sont aussi 100	) %
spiralées maintenant.	
On sait qu'à Maduraï (Inde) les droites ont disparu depuis 2001 et à	
Mialet depuis 2000.	

Mais il y a encore des sites souffrant des droites, et on cherche toujours les remèdes qui permettront le contrôle des droites à coup sûr..."

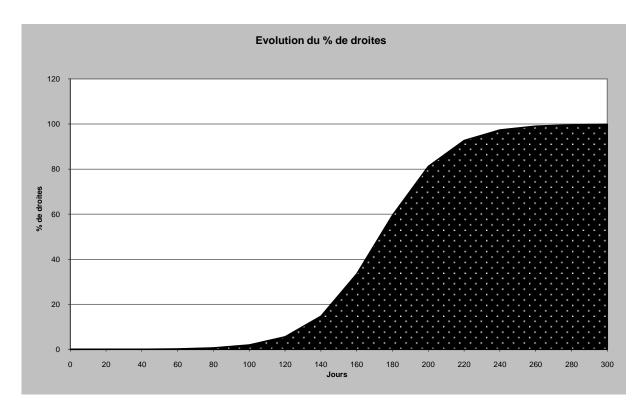
Toutes les droites ne sont pas gênantes : il y a les "longues" qui ne gênent guère la récolte et il y a les "endémiques", non virulentes, qui cohabitent avec les Paracas sans les envahir. Celles que nous redoutons par dessus tout sont les courtes virulentes, c'est-à-dire dont la vitesse de croissance est nettement supérieure à celle des spiralées. Un petit logiciel qui permet de simuler la façon dont ces droites peuvent brusquement "exploser" en quelques semaines ; dans l'exemple ci-dessous on part d'une culture contenant 1 droite pour 10.000 spiralées au temps zéro :

#### PROGRAMME DRIMPR

#### Données:

- 1) Profondeur de bassin, cm = 10
- 2) % initial de droites = .01 (1/10.000)
- 3) Débit d'injection de spiralées, g/m²/jour = 0
- 4) % de droites dans l'injection de spiralées = 0
- 5) (% de droites dans récolte)/(% dans culture), fraction = 1
- 6) Taux de mutation des spiralées, fraction/jour = 0
- 7) Taux de respiralation des droites, fraction/jour = 0
- 8) Concentration, g/I = .3
- 9) Productivité des spiralées, g/j/m<sup>2</sup> = 8
- 10) Productivité des droites, g/j/m<sup>2</sup> = 10

#### **RESULTATS:**



La seule vraie parade connue est une prophylaxie rigoureuse: vider et stériliser le bassin infesté et redémarrer avec une souche garantie sans droite comme celles provenant de l'Institut Pasteur ou de chez Jacques Falquet à Genève.

Mais pourquoi dans la nature ne trouve-t-on généralement pas de droites (en fait il y en a un peu dans les mares à dihé du Tchad) ? Une explication possible : les droites ne flottant pas, ou moins, elles tombent au fond du lac et meurent par manque d'oxygène et de lumière. Autre explication possible : les larves d'insectes ou les rotifères mangent préférentiellement les droites. A Koudougou (Burkina Faso) et à Pahou (Bénin) entre autres lieux on a constaté une disparition des droites en même temps qu'une prolifération de larves, et à Maduraï (Inde) en même temps qu'une prolifération de rotifères.

Si cette hypothèse est vraie, ce serait un argument pour ne pas mettre les bassins sous serre, puisque sous serre il n'y a pas, ou moins, de larves. Par ailleurs les serres ne favorisent pas les droites puisque de nombreux bassins sous serre fonctionnent d'année en année sans être envahis par les droites (même s'il y a, bien sûr, des bassins sous serre pleins de droites). Une agitation trop faible expose plus les spiralées, à cause de leur flottation forte, à la photolyse donc favorise indirectement les droites : dit autrement, les droites se contentent d'une plus faible agitation que les spiralées ; mais une agitation très efficace n'empêchera pas les droites virulentes de dominer, si elles sont présentes dans la culture.

Concernant les éventuels "avantages" des droites : c'est vrai que certaines ont le potentiel de pousser plus vite que les spiralées, mais cela ne se traduit pas forcément par une productivité accrue : la productivité est logiquement la même lorsque le carbone est le facteur limitant dans l'alimentation (apport de carbone par l'air atmosphérique seulement). Par contre des droites virulentes, c'est-à-dire capables comme dans l'exemple ci-dessus d'envahir complètement une culture,

permettent une production plus importante, voire très importante, si on les alimente en carbone artificiel (CO2, bicarbonate de sodium) ... à condition de pouvoir les filtrer et les essorer.

Ceci est l'occasion de rappeler la mésaventure que nous avons vécue à la Société Imade (Motril, Espagne), qui avait laborieusement sélectionné une souche de spiruline (droite courte) particulièrement virulente, laquelle avait reçu le nom de M1 et une large publicité dans la presse locale ; elle poussait si vite que les larves, pourtant extrêmement abondantes, ne pouvaient les consommer toutes, de sorte que la concentration en spiruline était fort élevée. Cette souche s'est avérée inrécoltable et inessorable par nos méthodes, et a du être abandonnée .... Ceux d'entre nous qui ont connu cette triste affaire espèrent que la disparition de la M1 a été totale et sont restés marqués par la phobie des droites. Auraient-ils tort ? Il ne faut pas être sectaire : qui sait si une technologie un peu "high tech" ne permettra pas un jour de récolter et d'essorer correctement des "M1"? La récolteuse mécanique à tambour rotatif de Robert Nogier (Saint Paulet de Caisson, Gard) est un pas dans la bonne direction, quoiqu'encore insuffisant. Des filtres vibrants, tant pour la récolte que pour l'essorage (sous vide), sont sans doute une solution possible.

Préserver des conditions faciles de récolte avec les petits moyens artisanaux habituels nous paraît préférable [il parait qu'un petit producteur espagnol continuerait à utiliser cette souche M1, en se donnant sûrement beaucoup de mal]. D'autre part la biomasse de droites est souvent trop difficile ou impossible à essorer par simple pressage et doit alors être lavée et égouttée avant séchage, et ce séchage doit souvent être fait que par la méthode "indienne" décrite au chapitre séchage (étalement en couche mince sur film plastique). On facilite la filtration et le pressage des droites en les mélangeant à 20 % de spiralées ou de Paracas ; ainsi Philippe Calamand fait une précouche de Paracas sur son filtre avant de filtrer les droites.

Il nous faut relater ici une expérience vécue au cours d'une opération d'élimination de chlorelles : la biomasse récoltée du bassin contaminé (à pH > 10) a été lavée avec du milieu neuf (à pH 8,2) et réensemencée immédiatement dans ce milieu, mais le choc de pH a été trop fort et la nouvelle culture est morte un jour après. Cependant quelques filaments ont survécu à ce traitement de choc et la culture est repartie, mais, et cela est intéressant à noter, absolument sans droite. La culture de départ était une Paracas contenant 0,5 % de droites (non virulentes) apparemment plus sensibles au choc de pH.

Dans cette vieille affaire des droites, il faut rester très humbles et reconnaître que notre ignorance est encore grande!

Il faut signaler un inconvénient supplémentaire des droites : leur biomasse fraîche est difficile à consommer car elle se présente comme une masse visqueuse et filandreuse au lieu du « fromage » facile à couper et tartiner normal.

# B) Etrangères

Tant que la spiruline est en croissance active, tant qu'elle est bien nourrie, récoltée, agitée et à pH > 9,5, d'un beau vert foncé et que le milieu est régulièrement purgé, aucune espèce d'alque concurrente ne réussit habituellement à envahir le bassin, du moins nous n'en avons jamais vu. L'apparition d'algues étrangères peut toutefois se produire, par exemple chlorelles en fin d'hiver en zône tempérée, et ne pas se voir. C'est pourquoi il est prudent de faire examiner (une ou deux fois par an par exemple) un échantillon de culture dans un laboratoire équipé d'un bon microscope et entraîné à reconnaître ce qui n'est pas de la spiruline: il peut s'agir de simples chlorelles (algues vertes monocellulaires comestibles) ou d'Oocystis (grosses chlorelles), mais aussi de cyanobactéries toxiques comme Oscillatoria agardhii (ressemble à une spiruline droite mais de longueur de cellules double. Oscillatoria rubescens ou Oscillatoria nigri-viridis (ressemblent à des spirulines droites mais de diamètre et longueur de cellules nettement plus grands et de couleur différente), Anabaena flosaquae (ressemble à une spiruline droite mais avec des indentations au niveau des parois entre cellules), Anabaenopsis arnoldii (ressemble à une spiruline spiralée mais avec des hétérocystes, renflements lui permettant de fixer l'azote) ou Microcystis aeruginosa (voir Annexe A 22 pour comparer les spirulines à ces algues). Oscillatoria grunowiana articulata tenius, non toxique et trop petit pour rester dans la biomasse pressée se voit au microscope, éventuellement après avoir teinté l'échantillon à l'encre de Chine. Si l'algue contaminante est eucaryotique (cellules à noyau bien distinct), il s'agit d'une algue verte ou brune, lesquelles ne sont très généralement pas toxiques. Un œil exercé peut distinguer facilement les principales Oscillatoria toxiques des spirulines droites.

Un test biologique de toxicité, simple, a été proposé par R. Fox : si de jeunes larves d'artémias ne meurent après plus de 6 heures au contact d'un extrait de culture de cyanobactérie, celle-ci ne serait pas toxique. Pour avoir des larves d'artémias il suffit de tremper deux jours leurs œufs (qui en termes scientifiques s'appellent des cystes, et qui se vendent dans les magasins d'aquariophilie et se conservent au réfrigérateur) dans l'eau salée à 30 g/l à température ordinaire et sous faible lumière le jour. On met de l'ordre de 10 % de culture de spiruline à tester dans la culture de larves d'artémias, dans un récipient transparent mince par exemple un "miniaquarium" fabriqué avec deux lames de microscopes. Il est recommandé de casser la membrane des micro-algues à tester car les toxines éventuelles sont surtout à l'intérieur (R.Fox a vérifié que les toxines d'une Oscillatoria toxique sortaient suffisamment même sans casser la membrane, mais pour plus de sécurité il vaut mieux la casser). Pour casser les membranes le moyen normal est la sonication aux ultra-sons, mais sinon on peut faire bouillir un court instant une suspension de la micro-algue.

D'autres tests biologiques du même type, encore plus simples et plus précis sont en cours de développement, et, nous l'espérons, seront mis sur le marché.

En cas d'infestation par la chlorelle, micro-algue verte unicellulaire non toxique (par exemple suite à utilisation d'eau brute non filtrée, et/ou à des récoltes trop fortes, ou pendant l'hivernage du bassin), il est nécessaire de s'en débarrasser, sinon elles prendront rapidement le dessus si les spirulines continuent à être récoltées, puis les récoltes s'annuleront. Pour s'en débarrasser, on peut théoriquement essayer de jouer sur le fait que les chlorelles décantent au fond où, privées de lumière, elles mourront : mais cette méthode reste délicate d'application car l'agitation générale du

bassin doit être stoppée et remplacée par une agitation très modérée, en surface, mais suffisante pour que les spirulines elles-mêmes ne meurent pas par asphyxie ou photoxydation (l'ombrage est pratiquement nécessaire); mais les chlorelles ont tendance à se remettre en suspension à la moindre agitation, rendant cette méthode inapplicable dans la pratique. Par contre on peut facilement jouer sur le fait que la chlorelle étant très petite passe à travers le filtre : il est donc possible de récupérer la spiruline en la récoltant et en lavant la biomasse avec une solution isotonique (par exemple du milieu neuf), puis de réensemencer après nettoyage soigné du bassin ; cette méthode s'est avérée convenable si elle est pratiquée avec soin, comme ce fut le cas chez Cédric Lelièvre en 2005 et chez Etienne Boileau en 2006, mais il faut veiller à ne pas exposer les spirulines à un trop grand choc de pH en la pratiquant (une différence de pH de 2 peut être mortelle, voir alinéa suivant). L'élimination des chlorelles du filtrat peut, théoriquement, se faire par plusieurs moyens : refiltration à travers un filtre plus fin (filtre à sable par exemple), stérilisation par les U.V., par la chaleur ou chimique. A noter qu'un essai de destruction de chlorelles à pH 13,5 à 21°C (ajout de 8 g de soude par litre) s'est révélé négatif à court terme mais évidemment positif au bout de quelques jours, et de même un essai à pH 12.

Il nous faut relater une expérience négative vécue au cours d'une opération d'élimination de chlorelles : la biomasse récoltée du bassin contaminée (à pH > 10) a été lavée avec du milieu neuf (à pH 8,2) et réensemencée immédiatement dans ce milieu, mais le choc de pH a été trop fort et la nouvelle culture est morte un jour après. Cependant quelques filaments ont survécu à ce traitement de choc et la culture est repartie, mais, et cela est intéressant à noter, absolument sans droite. La culture de départ était une Paracas contenant 0,5 % de droites (non virulentes). Les droites seraient donc plus sensibles au choc de pH.

En avril 2007 une autre méthode d'élimination des chlorelles a été expérimentée avec succès dans le bassin d'Etienne Boileau à Montpellier : on a laissé monter la concentration des spirulines sous agitation réduite jusque vers 0,8 g/l et ce jusqu'à étouffement des chlorelles qui ont fini par disparaître en quelques jours.

Des traitements répétés à 17 ppm d'ammoniac empêcheraient la prolifération des chlorelles dans une culture de spiruline d'après Vonshak (voir Bibliographie Vonshak 1997, page 91); la même référence indique d'autres moyens pour prévenir, dans la plupart des cas, la contamination par les chlorelles : travailler à une alcalinité élevée (0,2), avec un milieu limpide et une haute température. Ces mesures n'ont eu aucun effet chez Cédric Lelièvre, mais par contre la filtration fine de son eau d'alimentation (eau de surface) a été positive pour prévenir la réapparition des chlorelles.

Enfin les rotifères sont capables d'empêcher l'invasion d'une culture de spiruline par les chlorelles (voir article de Mitchell et Richmond ci-dessous de 1986) :

The use of rotifers for the maintenance of monoalgal mass cultures of *Spirulina* S. A. Mitchell <sup>1</sup>, A. Richmond <sup>2</sup>

**ABSTRACT** 

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Botany Department, UOFS, P.O. Box 339, Bloemfontein 9300, South Africa <sup>2</sup>Microalgal Biotechnology Laboratory, The Institute for Desert Research, Ben Gurion University, Sede Boger 84990, Israel

Zooplankton was successfully used for the biological control of unicellular algal contaminants in Spirulina mass cultures even under conditions adverse to the growth of Spirulina (maximal winter daily temperature of approximately  $10^{\circ}$ C and very low bicarbonate concentration). Brachionus plicatilis (Rotifera) was the most successful species of zooplankton used. The interrelationships between Spirulina, green unicellular contaminant, and B. plicatilis were studied under various conditions. Two species of unicellular contaminant were used; Monoraphidium minutum was isolated from local cultures and Chlorella vulgaris, obtained from contaminated Spirulina cultures in Israel. The rotifer B. plicatilis successfully controlled the population size of both contaminants whether they were introduced in a single addition or as a daily dose. The biological control of the unicellular contaminants allows Spirulina to be cultured in a medium low in bicarbonate, thereby reducing the cost of the medium and increasing the quantity of  $CO_2$  that may be freely absorbed from the atmosphere at the optimal pH for Spirulina cultivation.

La présence de naviculas, diatomées (algues monocellulaires contenant de la silice) brunes en forme de navette, est assez fréquente dans les cultures de spiruline contenant suffisamment d'ions silicate : l'addition de 50 à 100 ppm de chlorure de calcium la combat efficacement en réduisant la concentration en silicate soluble, car le silicate de calcium est insoluble.

Il parait prudent de faire une vidange totale ou une stérilisation des bassins de temps en temps (par exemple tous les 2 ans), et de redémarrer la culture à partir d'une souche de qualité garantie (monoclonale) pour éviter les risques d'une éventuelle « dérive » génétique de la souche cultivée. Cependant cette recommandation reste un peu théorique, et probablement inutile : la grande similitude génétique des Arthrospira laisse penser que l'on peut se fier à de simple critères « techniques » (filtrabilité, résistance, aspect, etc) pour estimer s'il y a lieu de renouveler la souche [avis transmis par Jacques Falquet, Antenna Technologies le 25/02/2003].

# 7.13) Contamination par micro-organismes

Dans le milieu de culture, au pH élevé (> 9,5) où l'on travaille, la majorité des microbes dangereux pour l'homme sont normalement inactivés en deux jours. Attention aux cultures à pH < 9,5 (cultures jeunes à base de bicarbonate de sodium, ou trop forte injection de CO2), qui risquent de ne pas bénéficier de cet effet protecteur. Par ailleurs il a été signalé le risque que certains microbes pathogènes introduits dans des cultures de spiruline (sans doute par suite d'une mauvaise observation des règles d'hygiène) deviennent résistants aux pH élevés, ce risque pouvant être augmenté si le sucre est utilisé comme apport de carbone ; mais il n'a jamais été confirmé. Il a été signalé aussi l'existence de microbes ou parasites africains risquant d'être résistants aux pH élevés : là non plus aucun cas réel n'a été observé si l'on suit des règles normales d'hygiène.

Les cultures contiennent par ailleurs des bactéries biodégradeuses adaptées au milieu de culture et qui jouent un rôle bénéfique, à côté du zooplancton, en purifiant le milieu et en recyclant des nutriments, tout en aidant à éliminer l'oxygène et en fournissant du gaz carbonique. La prolifération de ces bonnes bactéries exige une concentration suffisante en fer (de préférence chélaté), par exemple 0,5 ppm. Des germes de moisissures sont toujours présents dans les cultures car des moisissures apparaissent régulièrement sur le flottant laissé longtemps sans

agitation (comme à la surface des confitures artisanales), et l'analyse bactériologique décèle couramment de 5 à 500 colonies/g, sans qu'aucune norme n'ait été imposée dans la plupart des pays.

L'usage du sucre comme apport de carbone, ainsi que le fait de ne pas récolter pendant longtemps, provoquent une augmentation dans la culture du nombre de microorganismes filamenteux apparemment <u>incolores</u>, qui gênent la filtration mais ne se retrouvent pratiquement pas dans le produit fini (N.B. ces filaments apparemment incolores semblent provenir des <u>boues</u> où ils sont présents en grand nombre).

Une analyse bactériologique de vérification devrait être faite sur le produit fini de temps en temps (une ou deux fois par an ?). En raison des risques de contamination après récolte, une pasteurisation du produit fini peut être nécessaire mais elle doit être évitée si possible.

Attention : dans certains pays, l'eau servant aux nettoyages, rinçages, etc. pouvant être contaminée, cela peut être une source de contamination pour le produit récolté. Dans ce cas il est suggéré l'emploi systématique d'eau de Javel pour tous les nettoyages, avec rinçage final à l'eau chlorée (minimum 1 ppm de chlore actif libre : voir § suivant ; soit environ 1 goutte d'eau de Javel (vendue au litre, 2,8% de chlore actif) dans un litre d'eau de rinçage).

# 7.14) Empoisonnement chimique

Les détergents et les sucres ne sont pas toxiques à la dose de 100 ppm.

Un gros excès d'urée ou d'ammoniac provoque la mort des spirulines, le milieu de culture devenant "laiteux", avec mousse jaune ou verdâtre et des boues abondantes ; mais en général il y a assez de spirulines survivantes (sinon on peut réensemencer) pour régénérer spontanément la culture en une dizaine de jours si l'on prend la précaution d'ombrer.

Dans une série d'expériences on a trouvé qu'une dose de 8 ppm de chlore actif apporté par l'eau de Javel (hypochlorite de sodium) tue les spirulines dans leur milieu de culture à pH < 9, mais qu'elles résistent à 4 ppm; à pH 10,6 elles ont résisté à une dose de 12 ppm (mais l'effet du chlore varie suivant la demande en chlore du milieu). Les doses algicides généralement recommandées pour une eau à pH neutre sont entre 0,5 et 1 mg de chlore actif par litre.

N.B.: l'eau de Javel commerciale concentrée en berlingots titre 11 % de chlore actif, l'eau de Javel ordinaire vendue au litre titre 2,8 %. Il faut savoir que le pouvoir algicide de l'hypochlorite est beaucoup plus fort à bas pH qu'à pH élevé. Le thiosulfate (Na2S2O3, p.m. = 158) peut être utilisé pour neutraliser le chlore actif : il faut théoriquement 4,5 g de thiosulfate par g de chlore actif, selon la réaction :

2 Na2S2O3 + Cl2 = 2 NaCl + Na2S4O6 (dithionate)

Le thiosulfate est souvent vendu sous forme de pentahydrate (p.m. = 248), dans ce cas il en faut 7 g/g. Il est recommandé d'utiliser un excès de thiosulfate, par précaution.

## 7.15) Manque d'oxygène (hypoxie)

Si l'oxygène peut être considéré comme un poison pour la spiruline quand il est en forte sursaturation pendant la photosynthèse active, ce n'est pas le cas en l'absence de lumière puisque la spiruline a alors besoin d'oxygène pour respirer, comme les autres microorganismes aérobies présents. La teneur en oxygène du milieu de culture en équilibre avec l'air atmosphérique est donnée par la formule approchée suivante: mg/l ou ppm d'oxygène = 0,616 x (pression atmosphérique en mmHg) x (1 - 0,0009 x altitude en m.)/(31,64 +  $T^{\circ}C$ ) - 0,035 x (salinité en g/l), soit par exemple 8 ppm à 25°C.

Au pic de la période de photosynthèse active la teneur en oxygène du milieu de culture peut largement dépasser la saturation et monter à plus de 30 ppm. Mais la respiration de la spiruline consomme 1,2 g d'oxygène par g de spiruline "brûlée" soit facilement 3 g d'oxygène/m²/nuit, et de l'oxygène est aussi consommé par les autres microorganismes, surtout si le milieu contient du sucre et d'autres produits biodégradables; de la sorte le taux d'oxygène dans le milieu chute rapidement après l'arrêt de la photosynthèse, surtout si la concentration en spiruline est élevée. Comme l'a montré Jacques Falquet on atteint facilement l'anoxie en présence de 100 ppm de sucre, même en agitant la nuit. De l'oxygène de l'air se dissout dans le milieu dès que celui-ci est en dessous de sa concentration d'équilibre, mais cet effet est négligeable s'il n'y a pas d'agitation. On évalue l'absorption d'oxygène de l'air, en g/heure/m<sup>2</sup>, par la formule très approchée tirée de l'expérience piscicole = 0,3 x (puissance d'agitation, W/m²) x (concentration en oxygène à l'équilibre concentration actuelle, en ppm), soit par exemple pour un bassin agité en continu avec 1 W/m<sup>2</sup> et contenant 200 l/m<sup>2</sup> à 5 ppm d'oxygène : 11 g d'oxygène/m<sup>2</sup>/nuit. Il n'est donc pas étonnant que le fond d'un bassin non agité pendant la nuit manque d'oxygène et que les boues subissent une fermentation anaérobie avec formation de bulles de gaz insoluble (méthane) entraînant des remontées de boues vers la surface. Pour combattre cette situation, on peut agiter le dépôt de boues au balai et maintenir l'agitation de la culture la nuit, mais le plus efficace est d'enlever régulièrement l'excès de boues du fond du bassin. On enlève ces boues soit en transférant la culture dans un autre bassin, soit en aspirant le fond par pompe ou siphon. Le mélange de boues et de milieu de culture éliminé peut être recueilli dans une bassine pour décanter les boues et recycler la majorité du milieu de culture. Les spirulines ne semblent pas souffrir en cas d'anoxie pendant quelques heures par nuit. Amos Richmond a montré que la respiration était très faible dans les cultures très concentrées, donc dans les couches flottantes. On sait qu'on peut maintenir en vie une culture en ne lui donnant qu'un petit bullage d'air pendant la nuit, ne permettant qu'une respiration minimale. On sait aussi que dans les premiers temps de l'existence des spirulines sur terre, il n'y avait pas encore d'oxygène dans l'atmosphère, et pourtant les spirulines ont traversé cette époque victorieusement : il est probable que de l'oxygène qu'elles produisaient pendant le jour il leur en restait encore, dissoutes dans leur milieu de vie, des traces suffisantes la nuit pour survivre.

## 7.16) Maladies

Il arrive, très rarement, que des spirulines présentent des déformations, ou une boursouflure, ou alors des excrétions jaunes à une extrémité ou sur un côté des filaments, faisant penser à un éclatement de la paroi avec épanchement du contenu des cellules (spirulines dites "étripées"). Il est possible que cela résulte d'une attaque par virus cyanophages. Dans la pratique, ces anomalies disparaissent

d'elles-mêmes au bout de quelques jours de marche dans des conditions normales ; il est rare que cela aboutisse à la mort de la culture.

Photos de spirulines "étripées" vues au microscope, Ecole d'agriculture Don Bosco à Linares (Chili), 1998 :



# 7.17) Métaux lourds

La spiruline absorbe très facilement les métaux lourds présents dans le milieu de culture. Certains sont toxiques pour l'homme (mercure, plomb, cadmium). On trouvera en <u>Annexe 17</u> les teneurs maximum en métaux lourds autorisées en France dans la spiruline.

# 7.18) Nettoyage des bassins

Il est bon de nettoyer les bassins environ tous les 3 mois, ou avant que les boues du fond soient suffisamment épaisses pour fermenter et donner des boues flottantes. Mieux vaut en fait éliminer au moins partiellement les boues, de temps en temps, par aspiration au fond et décantation dans un bac à part : cette pratique, jointe au maintien de l'aération nocturne (par agitation), d'un pH modéré (< 10,5) et au brossage soigneux et <u>quotidien</u> des côtés, du fond et des replis du bassin, favorise très nettement l'autoépuration du milieu. Le seul brossage, sans enlèvement des boues, est moins efficace.

La meilleure méthode de nettoyage complet (par exemple annuel) d'un bassin est de transférer provisoirement la majeure partie du contenu du bassin dans un bassin voisin, puis de vidanger les boues, et brosser les bords et le fond, en rinçant. Attention aux recoins (plis du film plastique dans les angles). Il y a souvent un dépôt blanc incrusté sur le film : il s'agit d'un dépôt minéral, qu'on peut enlever par badigeon d'acide chlorhydrique dilué, qui a l'avantage de stériliser en même temps (on y a recours surtout lors des changements de souche).

## 7.19) Epuration du milieu de culture

Au bout de 2 à 6 mois de culture (selon le niveau de productivité et de soins de nettoyage), sans purge, le milieu de culture, neuf et parfaitement clair au départ, devient plus ou moins trouble et coloré en jaune-brun, la vitesse de filtration baisse et le pressage de la biomasse devient difficile. La pratique des purges régulières ou le remplacement total du milieu règle ce problème mais cela peut gêner l'environnement, et coûter trop cher en produits.

L'expérience a montré qu'un milieu « usé » peut être partiellement régénéré par simple décantation dans un bassin profond non agité, pendant un temps variable selon le degré d'épuration désiré. Il est probable qu'une partie des EPS se biodégrade pendant cette opération, mais une partie se dépose au fond, sous forme d'un dépôt plus ou moins coloré qui peut être envoyé au compost.

Il est possible d'obtenir ainsi une turbidité faible (Secchi noir de plus de 30 cm), par contre il reste des produits organiques dissous (le test de filtration sur 400 g est tout de même bon = 330 g filtrés en une minute par exemple).

Avant de réutiliser le milieu épuré il est bon de l'aérer pour supprimer les bactéries anaérobies présentes au fond du bassin de décantation.

Si le milieu envoyé au bassin d'épuration contient des spirulines, cela n'a pas d'importance : on pourra récupérer la couche flottante. Cela peut même être un moyen complémentaire pour réduire le pourcentage de spirulines droites ou de chlorelles.

Mais il y a mieux que la simple décantation : la filtration sur filtre à sable (par exemple de piscine ou d'irrigation au goutte-à-goutte).

Et il y a encore bien mieux : le milieu décanté et/ou filtré sur sable peut être soumis à une oxydation biologique avec injection d'air (aucun ensemencement en bactéries spéciales n'est nécessaire, les bactéries ambiantes naturelles suffisent, à condition toutefois que le pH soit modéré, inférieur à 10,5 de préférence), suivi d'une nouvelle décantation ou filtration pour éliminer les résidus (« boues actives »).

Par ces moyens on arrive à réduire la charge organique (DCO ou DBO) et la coloration du milieu épuré suffisamment pour que son recyclage permette de ne jamais avoir besoin de renouveler le milieu de culture ; cela se pratique ainsi à la ferme de spiruline de BIORIGIN en Equateur depuis une dizaine d'années (voir publication au Colloque des Embiez 2004).

Signalons une possibilité d'épuration chimique rapide et simple du milieu de culture usé par exemple par l'ajout d'eau de Javel (environ 5 % d'eau de Javel à 2,6 % de chlore actif) qui stérilise et épure totalement le milieu en quelques minutes, mais nécessite la neutralisation du chlore actif excédentaire par ajout de thiosulfate de sodium (Na2S2O3, 5 H2O) à raison de 5 g/litre avant recyclage. Cependant l'oxydation chimique par l'eau de Javel, ou le permanganate de potassium, ou l'eau oxygénée ne peut être recommandée tant qu'on n'aura pas vérifié qu'elle n'induit pas l'apparition de composés potentiellement dangereux pour le consommateur. L'oxydation à l'air ozoné est très efficace et ne produirait pas de composés dangereux, mais il faut disposer d'un ozoniseur et de plus la dissolution de l'ozone dans le milieu de culture à traiter n'est pas si facile.

L'épuration par oxydation de la charge organique réduit le pH du milieu de culture, jusque vers 10.

## 7.12) Morts subites de cultures

De nombreux cas de morts plus ou moins subites de bassins (surtout de Paracas) sont signalés même en été, sans qu'on sache encore avec certitude l'origine du mal. L'hypothèse d'un virus cyanophage est toujours envisagée mais non encore prouvée. L'hypothèse photolyse semble peu probable en été, ou alors il faudrait admettre une extrême photosensibilité de la souche. Philippe Calamand pense que le problème vient souvent d'un manque d'ammonium et il préconise comme remède d'ajouter de l'ammoniaque à dose de 1 litre à 13 % pour 10 m3 de milieu si le problème est repéré à temps, dose pouvant être triplée si le cas est grave.

La recherche des causes continue, mais dans l'état actuel de l'enquête on est tenté d'accuser la mauvaise qualité de l'environnement. Eau pure et air pur paraissent nécessaires à la bonne marche de la spiruline ; il faut fuir les voisins non bio, les villes, les industries, les routes. On est en droit de faire une corrélation entre les ennuis de nombreuses cultures de spiruline situées en zones viticoles (ralentissements de croissance, morts de bassins...) et la virulence du mildiou obligeant les viticulteurs à traiter avec des produits énergiques.

Une autre cause possible est l'invasion de la culture par une cyanobactérie concurrente en fins filaments droits qui est probablement du *Phormidium*, non toxique pour les animaux mais qui peut freiner la croissance des spirulines et même les faire mourir si sa concentration devient très forte. Cette cyanobactérie prenant naissance dans les boues (dont elle se nourrit en hétérotrophie sans doute), il faut faire la chasse aux boues pour l'éviter. Autre suggestion, plus facile à mettre en œuvre : travailler avec souche mixte et à concentration élevée en spiruline (ce qui va de pair avec une réduction de la profondeur de culture) : on favorisera ainsi la dominance d'au moins un des types de spiruline sur les algues étrangères, et on protègera mieux contre la photolyse.

Une remarque : la contamination d'une culture est d'autant plus probable que la surface de culture est grande, qu'elle soit répartie en un seul bassin ou entre un grand nombre échangeant entre eux la souche. Il faudra peut-être en arriver à adopter les bonnes pratiques des grandes fermes de spiruline, à savoir :

- Ne démarrer un bassin qu'à partir d'une souche pure, elle-même obtenue à partir d'un seul filament en milieu stérile et axénique, en prenant les précautions draconiennes usuelles dans les labos biologiques. Cela veut dire renoncer aux réensemencements faciles et instantanés à partir d'un voisin complaisant!
- N'admettre dans la ferme aucun visiteur ou employé qui ne serait pas habillé de pied en cap des vêtements de protection voulus et qui ne serait pas passé par un pédiluve stérilisant...

#### 8. RECOLTE

Il vaut mieux récolter le matin car la teneur de la spiruline en protéines y est généralement plus élevée que le soir, mais aussi pour d'autres raisons: chaleur excessive ensuite, nécessité de mettre la récolte à sécher dès que possible (surtout en cas de séchage solaire si le beau temps n'est pas assuré l'après-midi). La filtration sous plein soleil est fortement déconseillée car la biomasse sur les bords du filtre devient rapidement brune et salit la toile de filtration. Par temps couvert cette obligation de récolte tôt le matin est évidemment moins impérieuse, et par beau temps on peut toujours ombrer le filtre. Quelque soit le temps, si l'on opère en plein air, il faut couvrir le filtre pour éviter que la biomasse récoltée ne se dégrade et ne se salisse.

Quand cela est possible il est très avantageux d'aménager un poste de récolte à l'abri du soleil et des poussières, de préférence dans un bâtiment.

## 8.1) Filtration

La récolte consiste à filtrer une partie de la culture sur une toile fine (maille 25 à 50  $\mu$ ), en recyclant le filtrat dans le bassin, directement ou à travers un système de purification (filtre à sable, décantation). La culture est envoyée au filtre à travers un tamis de maille 300  $\mu$  destiné à intercepter les corps étrangers tels qu'insectes, larves, feuilles, boues ou grumeaux de spirulines. Un tamis de maille plus fine peut être nécessaire pour arrêter d'éventuels rotifères (l'ouverture de maille est choisie pour ne pas arrêter trop de spirulines).

La toile de filtration peut être simplement posée sur un grand tamis à bords de 10 cm de haut ou une grande passoire, mais un sac ou bien un tube (voir <u>fin</u> de ce §) peuvent être préférés. Les cadres de sérigraphie (toile très tendue sur un cadre, comme une peau de tambour) peuvent servir aussi de filtres, mais sont trop coûteux et fragiles, sans offrir d'avantage décisif. Il est intéressant, mais non obligatoire, que la toile de filtration soit tendue plane (dans le cas d'un sac c'est le poids du liquide qui tend la toile, sinon on soulève un bord de la toile à la main si c'est possible) pour faciliter son décolmatage avec une pelle à bord droit et aussi pour ramasser la biomasse si elle colle. Dans le cas de la filtration en tube on ne décolmate pas.

On peut pomper la culture (pompe d'un type ne cassant pas les spirulines! vérifier au microscope), ou la siphonner ou la laisser couler par gravité si le filtre est sous le niveau du bassin; pour la récolte manuelle, on utilise des bassines à bords de préférence droits; de toutes façons il faut veiller à ne pas remuer trop le fond du bassin, pour ne pas mettre en suspension les boues du fond, lors du prélèvement. Bien que le tamis arrête les boues les plus visibles, de fines particules sont cependant presque toujours entraînées dans la spiruline récoltée: il s'en dépose dans le tissu, surtout à l'endroit de l'arrivée de culture à filtrer (s'il y en a beaucoup, la toile, surtout de maille fine, se colmatera assez vite en se colorant en brun et l'on peut être amené alors à la nettoyer au jet d'eau en cours de récolte). On facilite la filtration, lorsqu'une couche de biomasse s'est formée sur la toile, en raclant la toile pour la décolmater : on utilise pour cela une pelle en plastique et l'on a intérêt, lorsque la filtration est lente, à sortir le contenu de la pelle et à le mettre à égoutter à part.

Pour les productions déjà un peu importantes, on a intérêt à utiliser une pompe à gros débit, genre pompe vide-cave (au moins avec la souche type ondulée ou « Paracas » peu sensible à la cassure par pompe), en plaçant le tamis à l'aspiration ou sur le refoulement, et en envoyant un jet tangentiel sur la toile horizontale, ce qui décolmate automatiquement cette toile.

Après arrêt de l'envoi de culture sur le filtre (éviter d'abaisser la concentration en spirulines en dessous de 0,4 g/litre), on laisse égoutter, puis on rassemble la pâte verte obtenue, dite "biomasse". La biomasse de spirulines contenant moins de 75 % de spirulines droites et provenant d'une culture en bon état, de pH et teneur en ammonium pas trop élevés, se filtre facilement et s'essore facilement par pressage. Parfois la biomasse égouttée sur le filtre se rassemble facilement en la faisant rouler sur elle-même pour former une boule (comme pour faire une boule de neige) ou un cylindre ; cette biomasse ne colle pas au plastique. D'autres types de biomasses ne font pas de boule et collent au plastique mais se laissent essorer facilement. Au contraire, les biomasses trop riches en droites, ou provenant d'une culture "vieille" ou "fatiguée" par trop de soleil ou une croissance trop rapide, ou trop riche en matières organiques dissoutes (sucres compris) donnent une "crème" collante, qu'on doit

ramasser à la louche ou à la pelle en plastique, et qui, à la limite, ne peut pas s'essorer par pressage..

Photo: Une belle "boule" (biomasse riche en spirulines spiralées type Lonar):



On peut aussi laisser finir d'égoutter la biomasse en sac suspendu. La biomasse égouttée contient 8 à 12 % de matière sèche pour un milieu de culture de salinité habituelle.

Comme décrit au § 7.9 (eps), les grumeaux de spiruline éventuellement retenus sur le tamis peuvent être récupérés.

Une toile de filtre en monofilaments polyamide (Nylon) ou polyester (Tergal) est préférable à une toile en coton parce qu'elle facilite le décollement de la biomasse récoltée et se lave ensuite plus facilement. Les toiles en monofilaments dites à usage industriel sont préférées, mais il est possible de se contenter de tissus d'habillement en nylon, tergal ou soie convenablement choisis (et beaucoup moins coûteux). La durée de vie d'une toile de filtration en tissu synthétique sera d'autant plus courte qu'on la laissera plus exposée au soleil. Les toiles finissent par se percer ou se déchirer. Il est possible d'utiliser un tissu en coton (drap) à condition de bien le choisir et à condition que la biomasse soit de "bonne" qualité (non collante) sinon elle passe à travers la toile coton.

Ne pas hésiter à laver les toiles à la machine à laver de temps en temps pour déboucher les pores. Il peut être bon aussi de repasser les toiles en tissu synthétique, à fer pas trop chaud, pour éliminer les plis qui se forment à la longue et gênent la filtration. Ne pas abuser de l'eau de Javel qui accélère le vieillissement des toiles.

La récolte manuelle de la couche flottante (lorsqu'elle se forme) à l'aide d'une bassine à bord droit est tentante car elle permet l'obtention d'un concentré de spirulines à environ 3 - 6 g/l, donc avec (par rapport au poids sec) environ dix fois moins des produits colmatant se trouvant éventuellement dans le milieu, et elle est rapide. Si l'on dispose de plusieurs bassins, on a intérêt à poser le filtre sur un autre bassin que celui dont la couche flottante est récoltée, de manière à ne pas la perturber par le filtrat. Comme les spirulines spiralées type Lonar flottent plus vite que les ondulées et les droites, il ne faut récolter la couche flottante qu'en cas de culture 100 % spiralée ou à flottation totale, sinon la culture s'enrichirait en spirulines non flottantes (droites par exemple) qui finiraient par prendre brusquement le dessus : surveiller l'évolution du % des différentes formes - surtout des droites - dans la culture au cours du temps. Il arrive que même les ondulées et les droites flottent complètement (ceci se produit notamment à l'obscurité lorsqu'il y a peu d'oxygène, par exemple en récipient fermé ou très peu aéré, avec environ 1 ppm d'oxygène dissout). Il serait certainement intéressant d'utiliser le dispositif suivant pour récolter des spirulines flottant à 100% (mais nous ne l'avons pas essayé) : transférer la culture dans une cuve profonde où se produirait une flottation totale, puis injecter de l'eau au fond pour récupérer la couche flottante par débordement.

Si la flottation n'est pas totale (on s'en aperçoit d'après l'aspect du milieu sous la couche flottante), ne pas récolter la couche flottante seule ; homogénéiser la culture avant de récolter (laisser seulement décanter les boues 5 minutes), et récolter de préférence à la pompe. Pour réduire la concentration en droites ou empêcher qu'elle ne croisse, on peut récolter par pompage près du fond, là où il y a la plus grande concentration en droites.

Il est un cas où l'on peut récolter la couche flottante sans hésiter : celui d'une culture de spirulines ondulées (Paracas) ayant tendance à se transformer en spiralées (Lonar) alors qu'on préfère garder un maximum d'ondulées.

#### Photos:





Filtration à la Coopérative Agro-Piscicole de N'dress, Bangui (RCA), 1995 :



Un rapetissement de la taille des spirulines peut être provoqué par une vitesse de croissance très rapide ou une salinité ou un pH trop élevés ou une trop forte luminosité, ou provenir de la souche (chez les spirulines spiralées type Lonar les spires peuvent devenir tellement serrées qu'elles se touchent). Dans ce cas, utiliser une toile de maille fine (25 à 35 microns), sinon il y aura des fuites importantes de spirulines à travers la toile surtout lors des décolmatages, d'où un mauvais rendement de filtration et une sélection aboutissant à enrichir le bassin en spirulines de plus en plus petites. Une toile à maille fine convient d'ailleurs dans tous les cas, elle est donc recommandée mais elle est deux fois plus chère ; elle s'impose pratiquement dans le cas de souche 100 % spiralée en plein été. Un certain pourcentage de droites ou d'ondulées facilite la filtration et peut éviter la nécessité de la maille très fine.

Pour une filtration assez facile même avec droites, il est bon d'avoir au moins un quart de formes spiralées (ou ondulées), de préférence grandes. A 10 % de spiralées et pH 11, ou 4 % et pH 10, la filtration est encore possible mais plus pénible. On peut apprécier la filtrabilité en faisant un test simple décrit en Annexe A6.1. Si toutes les spirulines sont de forme droite, le colmatage est si rapide que la filtration peut être jugée impossible. Si la biomasse devient habituellement infiltrable, ne pas hésiter à changer de souche.

La vitesse de filtration par gravité varie suivant le type de filtre, la concentration de la culture, et les mouvements imprimés à la toile ou à la biomasse pour décolmater. Une vitesse de filtration considérée comme bonne fournit de l'ordre de 300 g (de spiruline sèche)/heure/m² de surface filtrante.

Pour accélérer la filtration on peut utiliser le vide produit par un aspirateur ménager (voir <u>filtration</u>) ou la pression.

Les vibrations imprimées au filtre accélèrent la filtration, ce qui s'explique facilement par effet de décolmatage mais aussi par les propriétés rhéologiques des EPS dissous dans le milieu de culture (la viscosité décroît quand la vitesse de mouvement augmente).

La filtration sous pression se fait en tubes confectionnés en tissu de filtration, de diamètre 5 à 6 cm, alimentés par gravité ou par pompe et fermés par une pince ou un nœud. Ces tubes peuvent être disposés horizontalement dans le bassin même, mais de préférence ils sont

suspendus verticalement au-dessus du bassin ou dans la salle de récolte. Une rampe de plusieurs tubes d'une longueur de 1 mètre se révèle pratique. Le tamis est disposé en amont de l'aspiration de la pompe. Il est important que la pression dans le tube ne dépasse pas 1 m de colonne d'eau sinon la maille du tissu risque de s'agrandir sous l'effet de l'excès de pression et le rendement de filtration en souffrirait.

Le choix entre filtres plats, en sacs ou en tubes est une affaire de goût personnel, mais si le poste de filtration n'est pas à l'abri des salissures (poussières, insectes) le tube doit être préféré puisqu'il protège la biomasse.

## 8.2) Lavage et Essorage

Certains producteurs tiennent à neutraliser à l'eau acidifiée et/ou à laver à l'eau douce leur biomasse avant de l'essorer et de la sécher, au risque d'en perdre une partie par éclatement des cellules.

Si certaines spirulines supportent le lavage à l'eau douce, d'autres se décolorent ou éclatent à son contact et ne peuvent être lavées qu'à l'eau salée ou avec du milieu de culture neuf à la même salinité (ou plus exactement à la même force ionique) que le bassin récolté. En effet les spirulines mises en contact avec un milieu de salinité différente de leur milieu d'origine réagissent quasi instantanément en absorbant ou perdant de l'eau pour se mettre en équilibre osmotique avec le milieu, ce qui peut faire éclater leur paroi. Les ondulées (Paracas) résistent mieux à l'éclatement que les spiralées (Lonar).

Le lavage risque aussi de causer des contaminations microbiennes : d'une part si l'eau utilisée n'est pas pure, d'autre part parce que la baisse du pH rend la biomasse plus fermentescible lors de son stockage ou de son séchage.

A la ferme de Nayalgué (Burkina Faso), depuis que le lavage systématique l'eau salée à 5 g/litre a été adopté, une nette amélioration de la qualité organoleptique du produit séché a pu être observée.

Mais d'une manière générale il est recommandé de ne laver la biomasse que si on doit récolter alors que la culture est sale ou malodorante, ou si l'essorage est impossible, ou encore pour produire de la biomasse pour régime sans sel à consommer fraîche. Il faut noter aussi que la spiruline lavée à l'eau douce est très fade au goût.

Une biomasse provenant d'une culture en bon état n'a nul besoin d'être neutralisée ni lavée, seulement essorée.

L'essorage peut se pratiquer avec une essoreuse ou sur filtre à vide (trompe à eau ou pompe à vide), mais plus simplement par pression de la manière suivante: la biomasse égouttée est placée dans une toile du même type que celle utilisée pour la filtration, doublée à l'extérieur par une toile en coton solide - les deux toiles étant repliées sur la biomasse - et elle est pressée entre deux nattes ou planches rainurées: la majeure partie de l'eau libre est exprimée par la pression (0,2 kg/cm² suffit mais on peut monter à 1 kg/cm²). La presse peut n'être qu'une pile de poids, mais un pressoir à vis supérieure est pratique et plus propre, surtout s'il est en inox, comme celui représenté sur la photo suivante :

Photo: Pressage de biomasse à l'aide d'un pressoir à jus de fruits, Mialet, 1998 :



On peut aussi utiliser un cric de voiture pour exercer la pression, ou une presse à fromage à poids et levier. En augmentant la pression lentement et en l'arrêtant à temps (avant ou dès que le jus commence à être un peu vert), on réduit à presque rien les pertes de spiruline à travers la toile ; dans le cas de biomasse de bonne qualité et riche en spirulines spiralées, on obtient de très beaux résultats (biomasse pressée de consistance bien ferme) sans prendre beaucoup de précautions, mais toute la biomasse finirait quand même par passer à travers la toile si la pression était exagérément augmentée ; dans le cas de biomasses plus "fragiles" ou trop riches en droites, le jus coule vert plus facilement, la biomasse pressée est molle et collante et si l'on presse trop les spirulines risquent d'être réduites en bouillie trop molle pour pouvoir être ensuite extrudée. Même une biomasse de qualité excellente peut donner une biomasse pressée molle si la pression a été trop forte ou brutale : si l'on emploie un cric de voiture ce danger est réel et il est recommandé d'être très prudent (un indicateur dynamométrique serait utile). Il est bon d'observer le débit d'écoulement du jus de pressage pour se guider.

L'essorage/pressage doit se faire sans tarder et il faut surtout éviter que la biomasse souffre de la chaleur en attendant.

Il ne faut pas presser trop de biomasse à la fois, même si elle n'est pas "fragile" : il ne faut pas charger plus de 8 cm de biomasse par couche (mais il est possible de superposer plusieurs couches séparées par un intercalaire permettant le libre écoulement du liquide). Sous la couche inférieure, mettre plusieurs intercalaires pour faciliter l'écoulement du jus. Le pressage dure au moins 15 minutes, car il faut du temps au liquide pour cheminer à travers les très fins interstices ou capillaires entre les spirulines comprimées.

Le jus de pressage n'est, de préférence, pas recyclé au bassin, surtout s'il est trouble (mais si l'on dispose d'un système d'épuration on peut recycler). Le pressage de grumeaux verts donne toujours un jus "laiteux". Lors du pressage une partie des exopolysaccharides tapissant la face externe des spirulines se détache et se retrouve dans le jus de pressage, même si ce dernier n'est ni trouble ni coloré (cela se constate facilement en pratiquant le test de filtration normalisé sur le milieu de culture et sur le jus de pressage, ce dernier donnant en général un moins bon résultat).

Une spiruline pauvre en droites (moins de 50 %), provenant d'une culture jeune, et essorée convenablement, est de consistance très ferme, non collante et donne une tranche nette au couteau, et son pH est de 7 à 9 (selon degré de pressage; en fait 9 parait préférable pour le séchage et la conservation, donc ne pas presser absolument à fond). La spiruline spiralée essorée contient habituellement autour de 20 % de sec (plus pour les ondulées et encore plus pour les droites) si elle provient d'une culture de salinité normale (10-13 g/l) et s'il n'y a pas eu de lavage ou si le lavage a été fait avec une eau à la même salinité (ou plutôt à la même "force ionique") que le milieu de culture. Un milieu type Zarrouk ou une eau de lavage de salinité 20 g/l donne un % de sec majoré de 5 points, une eau salée à 30 g/l donne un % de sec majoré de 10 points (et un goût plus salé), par contre le lavage à l'eau douce donnera souvent un % de sec minoré de 5 points (et au goût "fade"). Les milieux de culture à base de cendres ou de bicarbonate de potassium donnent, à salinité égale (mais force ionique inférieure puisque le poids atomique du potassium est supérieur à celui du sodium), un titre en sec inférieur. Les spirulines ondulées donnent des biomasses pressées plus riches en matière sèche (environ 2,5 points au-dessus des spiralées type Lonar); leurs % de sec plafonnent cependant à 33 % à partir d'une salinité de 44 g/l (en NaCl). Bien distinguer six facteurs indépendants régissant le % de sec du produit pressé : la souche, la forme des filaments au sein d'une même souche, la salinité du milieu de culture, la quantité de biomasse essorée en une fois, la pression appliquée (ou le vide, ou la force centrifuge) et la durée du pressage.

Si la biomasse est "fragile" ou très riche en droites, ne pas presser plus de 2 cm d'épaisseur initiale et n'appliquer qu'une pression (ou un vide ou une force centrifuge) modérée et progressive et la laisser agir plus longtemps (par exemple 30 minutes) : cela est généralement efficace et permet d'obtenir une biomasse extrudable.

L'avantage de l'essorage par le vide ou par essoreuse est de permettre le traitement de biomasses égouttées peu concentrées, par exemple à 7 % de matière sèche, presque liquides, alors que le pressage est difficile voire impossible à mettre en œuvre dans ce cas-là.

Dans certains cas, surtout quand il y a de 90 à 100 % de droites, la biomasse ne se laisse pas essorer en une biomasse extrudable (les spaghetti, même si on arrive à les former, "fondent" au séchage), mais elle peut être lavée, puis étalée à la spatule en couche mince (1 mm) sur un film de polyéthylène tendu horizontalement pour séchage rapide au soleil ou sur un plateau d'étuve à aération latérale. Cette méthode doit être utilisée avec prudence, surtout si le lavage se fait à l'eau douce: le séchage doit être très rapide parce que la biomasse lavée à l'eau douce fermente vite et il est recommandé de faire des analyses bactériologiques plus fréquentes sur le produit séché ainsi obtenu. La réussite de ce type de séchage dépend fortement de l'épaisseur de la couche de biomasse étalée: si la répartition n'est pas bien faite, les parties les plus épaisses sècheront mal, prendront une mauvaise odeur, et ne pourront pas servir à l'alimentation humaine. Cette méthode de séchage, que j'appelle "méthode indienne" (parce qu'elle a été largement pratiquée dans l'Etat du Tamil Nadu en Inde du Sud), peut s'appliquer aussi aux biomasses qui se sont laissées presser correctement mais qui restent trop molles

pour être extrudées (dans ce cas, pas de lavage, mais éventuellement une petite redilution pour faciliter l'étalement en couche mince). Cette méthode de séchage donne des écailles ou flocons de spiruline d'un fort bel aspect, préféré par certains consommateurs, mais dont la densité apparente est très faible. Elle présente l'inconvénient que le support de séchage (film plastique) est assez difficile à nettoyer lorsqu'il n'est plus neuf, alors que les moustiquaires ou grilles n'ont pas besoin de nettoyage ou se lavent instantanément au jet d'eau. Enfin les flocons obtenus par cette méthode ont une fâcheuse tendance à se charger électriquement ainsi que le film plastique, qui s'attirent alors mutuellement.

A noter qu'une biomasse pressée « molle », pratiquement impossible à extruder, reste généralement bonne à consommer fraîche.

La biomasse non essorée et non lavée à l'eau, ou pas assez, brunit rapidement au soleil.

La biomasse essorée ou pressée doit être refroidie le plus tôt possible pour qu'elle ne s'abîme pas. Même si elle doit être séchée, on a intérêt à la mettre au frigo en attendant l'extrusion, sinon des odeurs désagréables peuvent se dégager lors de l'extrusion. Si elle doit être consommée fraîche, on a intérêt à la refroidir à près de 0°C le plus vite possible si on veut la conserver assez longtemps (jusqu'à 15 jours par exemple, ce qui est possible au moins en hivver en France).

En 2009 Bernard Morand a constaté qu'une biomasse conservée à  $2-3^{\circ}$ C pendant un ou deux jours se presse plus facilement, et qu'une biomasse pressée stockée à cette température pendant le même temps s'extrude mieux.

## **8.3**) Lavage des outils (voir aussi hygiène)

On a intérêt à rincer dès que possible, ou au moins à mettre à tremper, les outils, toiles, récipients, instruments ayant été en contact avec la spiruline; sinon, si la spiruline sèche avant nettoyage, elle devient très difficile à nettoyer et il peut s'ensuivre une consommation d'eau de lavage exagérée. Les toiles de filtration et de pressage doivent être lavées et séchées après usage pour garder leur efficacité et éviter qu'elles ne prennent des odeurs; attention: pour qu'elles durent plus longtemps, ne pas les exposer trop longtemps au soleil.

Un lavage des toiles de filtration et de pressage à la machine à laver avec détergent est pratique et recommandé au moins de temps en temps.

#### 9) SECHAGE

Le séchage est le seul moyen sûr de conserver et de distribuer la spiruline sans chaîne de froid.

Dans l'industrie la spiruline est classiquement séchée par « atomisation » (spray-drying), dans un courant de gaz de combustion à très haute température mais pendant un temps très court. Pour cela les filaments doivent être préalablement réduits en bouillie pour casser leur membrane : c'est en fait le jus de spiruline broyée que l'on sèche. A moins que le gaz de séchage ne soit très pauvre en oxygène, le spray-drying risque fort d'altérer le produit.

Dans la production artisanale, au contraire, ce sont les filaments de spiruline entiers que l'on sèche : le temps de séchage est plus long, mais l'intérieur des cellules n'est pas soumis au contact direct des gaz chauds.

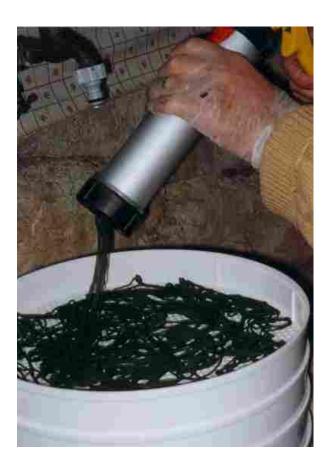
Si la spiruline pressée ne peut être séchée de suite, il faut la conserver en récipient fermé au réfrigérateur bien froid et pas trop longtemps (sinon elle dégage une odeur désagréable lors de l'extrusion) ; attention à ne pas la congeler, et à éviter les retombées de gouttes d'eau condensée sur la biomasse en cours de stockage. En chambre froide à 1°C la biomasse peut se conserver jusqu'à une semaine. La biomasse lavée ne peut se conserver, même au réfrigérateur (sauf si elle a été lavée avec de l'eau salée isotonique).

#### 9.1) Extrusion

Le séchage doit être suffisamment rapide pour que le produit sèche sans fermenter. La biomasse issue du pressage est d'abord répartie par extrusion en "spaghetti" sur un plateau formé d'un cadre garni d'une moustiquaire en nylon ou mieux en inox (maille 1 mm) ou sur une grille en plastique (à maille de l'ordre de 5 mm). Si la biomasse est trop fluide, on l'étale en couche mince sur un film de polyéthylène (méthode "indienne"). Puis la biomasse est séchée au soleil, ou, beaucoup mieux, dans un courant d'air à faible humidité relative et forte capacité d'absorption d'eau (séchoir solaire indirect, ou électrique, ou à gaz, ou déshumidificateur), jusqu'à ce qu'elle ne soit plus molle du tout, se détache facilement du support, et se broie facilement.

L'extrusion en spaghetti peut se faire à l'aide d'un décorateur de gâteau, ou avec un instrument de cuisine courant en Inde ("idiyapam maker" au Tamil Nadu) et en Extrême-Orient (fait d'une boite à fond percé de petits trous et d'un piston, ou à l'aide d'un pistolet à colle silicone professionnel type Sika, modifié (bouchon PVC de 50 mm percé de trous de 2 mm), ou avec un poussoir à saucisses, etc. Choisir un modèle ne comportant pas de pièce en aluminium au contact de la biomasse. Pour des productions déjà importantes, on aura intérêt à utiliser un "poussoir" en inox (appareil utilisé par les charcutiers), actionné par une manivelle avec engrenage, muni d'une filière en inox ou plexiglass. En déposant les spaghetti sur le support (plateau de séchage) éviter de former de gros amoncellements de biomasse, qui ne sècheraient pas assez vite. Si la biomasse est très ferme on peut l'extruder avec une filière à plus gros trous (ce qui est moins pénible) que si elle manque de fermeté. Si l'on désire obtenir des spaghetti bien droits il faut que l'épaisseur du bouchon dans lequel les trous sont percés soit triple du diamètre des trous (utiliser une perceuse à colonne). Dans le cas d'utilisation du pistolet SIKA de 300 ml, nous avons remarqué qu'il est nécessaire de boucher la fente du piston par un peu de plastique autocollant pour éviter un by-pass excessif de biomasse derrière le piston.

Photo : Extrusion de biomasse pressée, avec pistolet à silicone Sika (professionnel, type manuel "à poche"), sur un plateau de séchoir électrique Stoeckli, Mialet, 1998 :



# 9.2) Séchage

On peut sécher à l'ombre simplement dans un courant d'air à température ambiante, sous moustiquaire (il suffit que l'air soit à température nettement supérieure à son point de rosée) ; c'est le même principe que le séchage du linge sur la corde ou de la vaisselle sur le vaisselier : ainsi nous avons pu sécher très bien dans une hotte de laboratoire munie d'un puissant ventilateur et d'un filtre  $0,2~\mu$  (arrêtant les bactéries), sans chauffage. Mais la teneur finale en eau du produit paraissant sec peut être décevante ; elle dépend essentiellement de la température et de l'humidité de l'air, du débit de ventilation et de la durée du séchage. Généralement il faut terminer la déshydratation dans un séchoir à air chaud ou avec un déshumidificateur.

Nous avons séché facilement la spiruline dans une armoire métallique munie d'un déshumidificateur et d'un ventilateur recyclant l'air à travers les plateaux de séchage. Le déshumidificateur doit être capable d'abaisser l'humidité relative de l'air à 30 %. Ce dispositif, qu'on peut appeler "séchoir thermodynamique", permet de s'affranchir totalement de l'humidité de l'air ambiant et des poussières. Il permet même, si l'on veut, de remplacer l'air par un gaz neutre ou appauvri en oxygène pour réduire l'oxydation de la spiruline en cours de séchage (préservation du béta-carotène). Le seul problème est qu'il faut refroidir l'armoire pour éviter de dépasser 45°C à l'intérieur. En climat chaud et humide cela peut obliger à recourir à un climatiseur, à moins de sécher de nuit. On obtient 40-50 g de spiruline sèche par heure avec une puissance de 350 Watt (hors climatiseur).

Le séchage au plein soleil en plein air est le plus rapide et le moins coûteux, mais il a des inconvénients : le produit est exposé aux poussières et aux animaux (il faut de préférence le protéger par une moustiquaire), et il risque de bleuir en surface par destruction de la

chlorophylle par les ultra-violets ; après broyage ce bleuissement n'est plus perceptible, mais une altération du goût reste sensible. Ce type de séchage, qui a été longtemps pratiqué à Madurai (Inde), réussit bien si les conditions sont bonnes pour un séchage très rapide : s'il est suffisamment rapide ou si la lumière solaire est suffisamment pauvre en ultraviolets, l'altération de la couleur et du goût peut être imperceptible.

Des plans de séchoirs solaires plus élaborés sont donnés en Annexe 27. Un séchoir solaire amélioré comporte une partie chauffage de l'air séparée de la zone où se trouve la spiruline, à l'abri de la lumière, de la pluie et des insectes ; l'air doit y circuler avec un bon débit provoqué de préférence par ventilateur. Le thermosiphon (effet de cheminée) ne convient que s'il y a peu de "spaghetti" sur les plateaux. L'influence de la ventilation sur le séchage est primordiale. Avec un fort débit d'air on peut empiler jusqu'à 3 cm de "spaghetti" sur les plateaux. Si un ventilateur à moteur axial est utilisé pour souffler de l'air à travers des plateaux tout proches, bien tenir compte que le débit est souvent très faible à proximité du centre du ventilateur : on a intérêt à interposer un plateau intercalaire vide servant de répartiteur de flux d'air.

Si l'air est chauffé pour abaisser son degré d'humidité relative, la température doit être limitée à 80°C. En fait on sèche souvent à plus basse température (généralement 65°C ou même 40°C) avec de bons résultats, mais si l'on a des craintes sur la qualité bactériologique du produit il est possible de monter à 80 °C pour le "pasteuriser" sans que, semble-t-il, sa teneur en constituants sensibles comme l'acide gamma-linolénique ou le béta-carotène ne diminue sensiblement.

Le temps de séchage varie selon l'épaisseur de biomasse fraîche sur chaque plateau, mais aussi selon le nombre de plateaux superposés, le % de sec dans la biomasse, la souche (les spiralées sèchent un peu plus vite), la température et l'humidité de l'air et, bien sûr, le débit d'air : dans la pratique, en général il se situe autour de 4 heures, mais il est parfaitement possible de sécher en une heure si l'on veut. En cas de mauvais temps, si on utilise un séchoir solaire, on peut lui adjoindre un radiateur électrique ou à gaz, ou bien le séchage peut se terminer (ou se faire entièrement) dans un séchoir électrique ou à gaz ou bien même dans un four à pain à basse température et aéré.

Un séchoir électrique pour fruits et légumes, comme l'appareil suisse de marque Stoeckli, de puissance 450 Watt, avec plateaux de 30 cm de diamètre, a une capacité moyenne de séchage de 20 g (compté en sec) par heure. Son débit d'aération a tendance à être un peu faible et c'est dommage.

Si l'on n'a pas d'électricité, on peut utiliser un séchoir chauffé au gaz (butane ou méthane de digesteur) - dont une esquisse est représentée en <u>Annexe 27</u>. Il est très important de munir le brûleur d'une sécurité.

La température de la biomasse en cours de séchage dans un séchoir à plateaux superposés sans recyclage de l'air (cas du Stöckli) reste théoriquement proche de la température de rosée de l'air, quelle que soit la température sèche de celui-ci, tant qu'il reste de l'eau libre à la surface de la biomasse ; pratiquement la température de surface s'établit à mi-chemin entre cette température de rosée et la température de l'air, en début de séchage, puis monte graduellement pour rejoindre la température sèche de l'air en fin de séchage. La température au coeur du produit s'élève graduellement de sa température initiale jusqu'à la température de l'air. Il est souhaitable de minimiser le temps où le produit humide est au voisinage de 37°C,

température la plus favorable à la fermentation. Il faut aussi éviter de porter à plus de 60 °C le produit encore humide (au cœur des spaghetti) qui risquerait de "cuire" en se décomposant (changements de couleur). Le premier plateau reçoit l'air à sa température maximum mais avec température de rosée minimum (voisine de 20°C habituellement), tandis que les plateaux supérieurs reçoivent un air encore chaud mais chargé d'humidité, donc à température de rosée élevée et d'autant plus que le débit d'air est faible. On voit l'intérêt de limiter le nombre de plateaux superposés et de ne pas gêner le débit d'air (maintenir propres et dégagés les filtres ou moustiquaires protégeant l'entrée et la sortie de l'air de l'appareil). Dans la pratique, avec les séchoirs Stoeckli, qui ont un faible débit d'air, nous limitons absolument le nombre de plateaux à 5 et leur charge individuelle à 2 kg de biomasse fraîche par m² de plateau (soit 150 g/plateau). Si l'on charge trop de biomasse fraîche par rapport au débit d'air, ou si le ventilateur ne fonctionne pas bien, ou si la biomasse est trop molle, ou si le temps est trop humide, ou si le thermostat est réglé trop bas, le séchage ne se fait pas assez rapidement, la spiruline commence à se détériorer avant d'être sèche, elle dégage une odeur anormale ("propionique" ou "butyrique") et parfois les "spaghetti" s'aplatissent ("fondent"), restent comme du plastique mou et ne se décollent pas du plateau : dans ces cas, il vaut mieux réserver le produit à l'alimentation animale ou carrément le jeter au compost. Une spiruline mal séchée est généralement trop molle pour pouvoir être broyée, ce qui est un indice, mais attention: il arrive que l'on ne s'aperçoive pas qu'une détérioration ait eu lieu car le produit peut quand même paraître sec et bien vert en surface alors qu'il est mou et noirâtre à l'intérieur, ou bien il a pu changer de couleur et finir par sécher quand même ; il est donc important de vérifier la qualité du produit sec d'après son odeur et son goût et de le piquer avec une pointe de couteau pour vérifier s'il est dur et vert à cœur. Le dégagement d'odeur en début de séchage ne signifie pas forcément que le produit sec soit de mauvaise qualité ou de mauvais goût.

Une biomasse de bonne qualité, pressée bien ferme, sèche sans que les cylindres des spaghetti ne se déforment : ils restent cylindriques, mais évidemment de diamètre réduit (rétréci). S'ils se déforment c'est que la biomasse a tendance à « fondre ». Si elle est trop molle elle « fond » carrément et s'étale.

Souvent nous préférons sécher la spiruline en deux stades, surtout lorsque l'air est humide :

- a) un séchage à basse température (40-50°C) mais à gros débit d'air (vitesse d'air de 1 m/s) autorisant une charge élevée (20 kg de biomasse fraîche par  $\rm m^2$ , en 5 plateaux), durée 2,5 à 3 heures pour une teneur en eau finale de 15 20 %, et une humidité relative de l'air sortant de 10 à 20 %
- b) un séchage à débit d'air faible (par exemple en séchoir Stoeckli) mais à plus haute température (65-80°C), assurant à la fois une certaine pasteurisation et l'extraction de l'eau jusqu'à 4 % d'eau en une heure (ou même beaucoup moins).

La charge maximum qui a été indiquée en a) ci-dessus s'entend pour une biomasse pressée de bonne qualité (ferme) ; si elle est molle il faut réduire la charge à 10 voire 5 kg/m².

Le séchoir du premier stade a été réalisé autour d'un ventilateur de 50 W de diamètre 30 cm correspondant à celui des plateaux Stoeckli qui sont posés dessus. Ce ventilateur aspire à travers un filtre à poussières (ouate synthétique vendues pour garnir les hottes de cuisine) un air qui est réchauffé par un radiateur électrique soufflant (de puissance 1 à 2 kW).

Le premier stade suffit lorsque l'air ambiant est très sec (séchage à moins de 9 % d'eau en 4 heures). Le 2<sup>ème</sup> peut être effectué en sèche-linge électrique, les spaghetti préséchés étant enfermés dans un sac de toile : c'est un système simple et qui fonctionne à la satisfaction de plusieurs producteurs français.

Un autre mode de séchage, donnant des flocons d'un bel aspect, est celui où l'extrusion est remplacée par un étalement en couche <u>mince</u> avec une spatule sur un film plastique (longtemps pratiquée à Madurai en Inde).

Test de fin de séchage : voir § suivant 9.3 test.

Pour établir la courbe du % d'eau dans le produit en fonction du temps de séchage, il suffit de mesurer le poids brut des plateaux en cours de séchage, la tare des plateaux, le poids de biomasse à sécher, le poids net sec et de connaître le % d'eau en début ou en fin de séchage. à partir du % d'eau de la biomasse pressée.

Au cas où le séchage a été insuffisant il est possible de le compléter soit par un nouveau passage au séchoir à 65-80°C (en mettant le produit sur des assiettes s'il a déjà été broyé), soit de préférence en l'enfermant dans un récipient étanche en compagnie d'un sachet deshydratant (gel de silice ou tamis moléculaires). Ces deshydratants sont régénérables par passage au four.

Enfin il faut signaler que les séchoirs thermodynamiques (à deshumidification par pompe ç chaleur) ont un bel avenir dans le séchage de la spiruline (déjà utilisés depuis 1999 à Adzopé en Côte d'Ivoire à la SAP La Mé).

#### 9.3) Broyage et test de séchage

La spiruline bien séchée est craquante, se détache toute seule du support de séchage et se laisse facilement piler ou broyer au moulin à café en une poudre plus ou moins fine selon le goût de chacun. Un broyeur manuel bien adapté est celui de marque Sfinx ou Corona très répandu dans beaucoup de pays d'Afrique et d'Amérique Latine. Un moulin à café électrique fait bien l'affaire aussi.

La densité apparente de la spiruline extrudée, séchée et broyée est de 0,5 à 0,66 kg/litre selon la finesse (la densité de la spiruline sèche elle-même est proche de 1). Certains préfèrent ne pas broyer la spiruline sèche pour lui conserver sa "texture" en batonnets qui fait plus penser à des "algues", mais alors sa densité apparente est beaucoup plus basse.

La spiruline doit contenir moins de 9 % d'eau pour bien se conserver. La mesure de la teneur en eau est très facile avec le dispositif suivant (voir Annexe 6.2.6): mettre le produit à tester (environ 200 g) dans un récipient genre "Tupperware" d'environ un litre, à couvercle transparent pour permettre la lecture de l'hygromètre placé (scotché) à l'intérieur. Un produit suffisamment sec doit donner un % d'humidité relative à l'équilibre inférieur à 45 (vers 25°C). Pour que la mesure soit exacte il faut que l'ensemble de mesure soit en équilibre non seulement d'humidité mais de température, ce qui peut exiger un temps assez long (1 à 2 heures).

#### **9.4) Conditionnement**

La spiruline sèche peut se conserver longtemps sans perdre trop de ses qualités à condition d'être stockée en sachets bien remplis et étanches, à l'abri de la lumière, de l'air, et des fortes chaleurs. Des sachets en plastique aluminisés multicouches,thermoscellables, conviennent très bien, mais il est préférable de faire le vide dans le sachet tout en le thermoscellant (des appareils commerciaux existent pour cela) : dans ce cas le produit peut se conserver 5 ans. Si l'on ne peut pas sceller sous vide, l'absorption de l'oxygène restant dans le sachet convenablement scellé provoquera souvent (mais pas toujours) sa mise "sous vide" spontanée en quelques jours si le récipient est bien scellé ; cette absorption d'oxygène s'accompagne de la destruction d'au moins une partie de composants oxydables de la spiruline, comme le bétacarotène. Il arrive parfois que le sachet gonfle au lieu de se mettre sous vide : une explication plausible serait le dégagement de CO2 par acidification des restes de bicarbonate (acidification par migration de l'intérieur des cellules qui est très acide).

Si le produit doit être utilisé rapidement (moins de 3 mois), l'emballage en sachets plastique non métallisé est possible.

Attention : les rongeurs percent volontiers ces sachets de spiruline. Il faut les conserver en un lieu sûr, par exemple dans une cantine métallique.

## 9.5) Contrôle de qualité bactériologique

Le séchage à basse température (40 à 50 °C) a l'avantage de mieux préserver la qualité nutritionnelle du produit et donne déjà un produit généralement correct du point de vue bactériologique. Aucun microorganisme dangereux ne peut survivre longtemps dans un produit à moins de 9 % d'eau correspondant à une activité de l'eau inférieure à 0,5 (< 50 % d'humidité relative dans l'air à l'équilibre avec le produit à 25°C). La spiruline ne contient en principe pas de spores à cause du pH du milieu de culture. La qualité microbiologique s'améliore au stockage. Le stockage en sachets scellés permet une vérification a posteriori de la qualité du séchage : si le vide se forme, c'est que le produit était correct ; si le sachet parait gonflé (cela peut demander quelques mois), c'est qu'il y a fermentation ou évolution enzymatique ou acidification de traces de bicarbonate résiduel, ou simplement que la poudre s'est densifiée (tassée).

En cas de doute sur la qualité bactériologique ou le degré de séchage de la spiruline séchée, il est possible de la chauffer à 120°C dans un four ou un stérilisateur solaire. Mais la chaleur sèche ne stérilise pas bien et ne détruit pas les spores de bactéries ni les toxines éventuellement présentes. C'est pourquoi il demeure nécessaire de travailler en respectant au moins les règles d'hygiène classiques (ne pas toucher le produit avec les mains, travailler loin du sol, avec des instruments et récipients en inox ou plastique, etc.), et il est bon de faire vérifier de temps à autre la conformité du produit par rapport aux normes bactériologiques en vigueur.

# 10) CONSOMMATION

### 10.1) Alimentation humaine

La spiruline ne remplace pas les aliments caloriques tels que le manioc, le riz, le blé, la pomme de terre ou le maïs, mais c'est un ingrédient idéal de la sauce protéinée qui accompagne la "boule" africaine, par exemple, apportant non seulement ses protéines, mais de nombreux autres éléments très favorables à la bonne santé de tous et notamment des petits enfants.

Mille mélanges et recettes peuvent être inventés pour consommer la spiruline crue ou cuite, fraîche ou sèche, de manière agréable. Il n'est pas exagéré de prétendre pouvoir faire de la très bonne gastronomie à base de spiruline de qualité, surtout fraîche.

La spiruline séchée en spaghetti est généralement préférée par les consommateurs au produit industriel séché à l'atomiseur ("spray dried"), tant pour sa consistance physique que pour son odeur. La présentation sous forme de spaghetti non ou peu broyés (seulement cassés) plait généralement beaucoup, mais coûte plus cher en emballage.

# 10.1.1) Biomasse fraîche

La biomasse fraîche de bonne qualité peut être directement consommée après pressage ou bien elle peut être mise en conserve (congelée, salée, sucrée ou séchée). Fraîche, elle peut se garder de deux à quelques jours au réfrigérateur, selon la vitesse à laquelle elle a été refroidie et selon sa température de conservation au réfrigérateur, et selon la saison, mais elle se conserve seulement si elle n'a pas été lavée après filtration. Avant de consommer une spiruline conservée au réfrigérateur, vérifier son absence d'odeur. Bien que le meilleur moment pour récolter soit le matin, il est possible de retarder un peu la récolte jusqu'à un moment plus opportun pour la cuisine ou le repas si l'on n'a pas de réfrigérateur. En cours de stockage en réfrigérateur, en récipient non fermé, il arrive que des sels résiduaires migrent en surface du produit, lui conférant un goût amer: dans ce cas enlever la "croûte". Le meilleur mode de stockage en réfrigérateur est sous la forme de saucisses (sans contact avec l'air) qui évite tout risque de retombée de gouttes d'eau distillée sur la biomasse. En climat tempéré, la spiruline fraîche récoltée l'hiver peut se conserver très longtemps au réfrigérateur à 3°C : 10 à 15 jours par exemple.

Dans l'option congélation, veiller à ne pas congeler de trop grosses masses unitaires qu'il serait impossible de diviser lors de l'utilisation : mieux vaut faire des "glaçons" très pratiques (on peut utiliser les bacs à glaçons classiques) ou encore bien mieux des « tablettes » (comme de chocolat). Pour faire ces tablettes on peut utiliser la méthode mise au point par Marc Pilard : mettre la spiruline fraîche dans un sac de congélation en polyéthylène et l'étaler avec un rouleau à pâtisserie en couche mince uniforme de 2 à 3 mm d'épaisseur qu'on « raye » ensuite en un quadrillage de carrés ou rectangles de la taille désirée. La congélation très rapide ainsi rendue possible fait que lors de la décongélation la phycocyanine ne sort pas (les cellules de spiruline n'étant pas percées par les cristaux de glace). Pour plus de facilité de stockage et d'utilisation, les carrés peuvent être séparés (simplement en cassant le long des rayures) puis stockés (de préférence sous vide) :



## 11) HYGIENE

La production industrielle d'un produit alimentaire respectant les normes internationales nécessite le respect de règles d'hygiène draconiennes tant au niveau du matériel que du personnel et de l'emballage :

- matériel en plastique alimentaire, verre ou inox
- port de gants, masques, résilles
- filtration de l'air
- stérilisation des outils, du produit et des emballages.

De telles précautions paraîtront hors de portée des exploitations familiales ou artisanales, mais celles-ci doivent au moins s'efforcer de travailler le plus proprement possible. Le niveau d'hygiène à respecter s'apparente à celui qui est habituel au niveau de la cuisine et de la vaisselle familiale ou communautaire dans la région. Voici quelques recommandations de bon sens :

- Se laver les mains avant de travailler à la spiruline
- Vérifier qu'il ne reste pas de la spiruline dans les recoins du matériel après nettoyage (par exemple sur les bords des cadres de filtration, ou dans l'extrudeuse).
  - Utiliser des ustensiles de couleur blanche de préférence.
  - Eviter le contact de restes de spiruline sèche avec de la biomasse fraîche.
- Eviter le contact des ustensiles avec le sol ou le ciment qui sont des nids à microbes
- Ne jamais toucher avec les doigts nus de la spiruline sèche pour ne pas risquer de la contaminer par des staphylocoques dorés.
  - Eloigner les rongeurs (il existe des appareils à ultrasons pour cela).
  - Couvrir les récipients contenant de la biomasse pour éviter qu'elle se salisse.

Une spiruline artisanale peut être de très bonne qualité. Mais si elle est produite et surtout séchée et manipulée dans un environnement riche en microbes "domestiques" elle ne pourra être consommée que par des personnes habituées à cet environnement : pas question de la commercialiser en ville ou sur le marché international, sauf à la stériliser et/ou à l'analyser

pour vérifier qu'elle est conforme aux normes en vigueur. Les Chinois stérilisent leur spiruline par irradiation, mais cette méthode n'est pas recommandée car elle détruit des vitamines et produit des radicaux libres ; de toutes façons, elle n'est pas à la portée des artisans.

Attention : dans certains pays, l'eau servant aux nettoyages, rinçages, etc. pouvant être contaminée, cela peut être une source de contamination pour le produit récolté. Dans ce cas il est suggéré l'emploi systématique d'eau de Javel pour tous les nettoyages, avec rinçage final à l'eau chlorée (min 1 ppm chlore libre).

# 12) RECOMMANDATIONS FINALES

Après son long apprentissage dans des conditions de culture de la spiruline très variées, l'auteur tient à souligner celles qu'il considère comme les plus faciles pour l'artisan, et qui se résument à ne pas chercher à faire des exploits de productivité ou de prix de revient.

Pratiquement cela veut dire :

- protégez vos bassins par une serre ombrée,
- utilisez l'air comme source de carbone principale,
- résistez à la tentation de récolter la couche flottante,
- utilisez oligo-éléments et fer chélaté,
- si vous devez vous absenter, ne confiez vos cultures qu'à des mains sûres.

De plus, surtout pour les débutants qui n'ont pas encore acquis du doigté :

- maintenez votre concentration en spiruline assez élevée (Secchi entre 2 et 3 maxi)
- brossez quotidiennement le fond et les côtés de votre bassin
- pratiquez un taux de purge assez élevé (> 1 %/jour)
- chargez peu votre séchoir (< 5 kg de biomasse fraîche/m² de section)

Sans oublier de vérifier l'étalonnage de vos thermomètres et autres instruments!

# **ANNEXES**

#### **SOMMAIRE**

- A1) Influence de différents facteurs sur la croissance
- A2) Mesure de la concentration en spiruline
- A3) Mesure de la salinité
- A4) Mesure du pH
- A5) Mesure de l'alcalinité
- A6) Tests de qualité faciles à réaliser
- A7) Absorption du CO2 atmosphérique
- A8) Interaction Photosynthèse/Absorption du CO2
- A9) Productivité en fonction de l'ombrage
- A10) Consommation d'eau en fonction de l'ombrage
- A11) Correspondance entre pH et rapport CO2/base
- A12) Mélanges de carbonate et de bicarbonate de sodium

- A13) Neutralisation de l'eau de cendre
- A14) Composition de divers produits
- A15) Matériel de laboratoire utile
- A16) Produits chimiques
- A17) Normes de la spiruline
- A18) Limites de concentrations dans le milieu de culture
- A19) Composition élémentaire de la spiruline
- A20) Composition nutritionnelle de la spiruline
- A21) Eléments de prix de revient et fournisseurs
- A22) Pour comparer les spirulines à d'autres algues
- A23) Spirulines vues au microscope
- A24) Pour ceux qui ont de l'électricité
- A25) Hivernage
- A26) Formules d'Oligo-éléments
- A27) Modèles de Séchoirs
- A28) Projet semi-artisanal de 5 kg/jour
- A29) Check list pour démarrage de spiruline
- A30) Spiruline humanitaire dans les PVD (par P. Ancel, mai 2004)
- A31) Adoucissement de l'eau

# A1) Influence de la température, de la lumière, de l'alcalinité, de la salinité et du pH sur la photosynthèse de la spiruline

On peut admettre que la vitesse maximum de photosynthèse, dans un bassin bien agité, et dans les meilleures conditions de température, lumière, alcalinité, salinité et pH, est voisine de 1,8 g/heure/m² de bassin.

Cette vitesse peut d'ailleurs varier en fonction de la souche de spiruline et de la présence de catalyseurs.

Dans les programmes de simulation donnés dans <u>CALCUL</u>, on fait l'hypothèse que la fonction photosynthèse est directement proportionnelle à des fonctions de la température, de l'éclairement, de la salinité, du pH et du degré d'agitation :

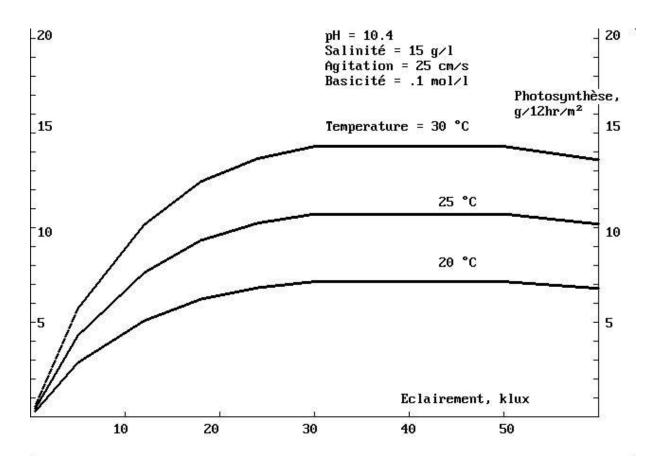
Vitesse de photosynthèse =  $k \times f(T) \times f(klux) \times f(salinité) \times f(pH) \times f(agitation)$ 

Cette hypothèse n'a pas de vraie base scientifique, mais elle facilite les calculs et elle donne des résultats souvent proches de la réalité du terrain..

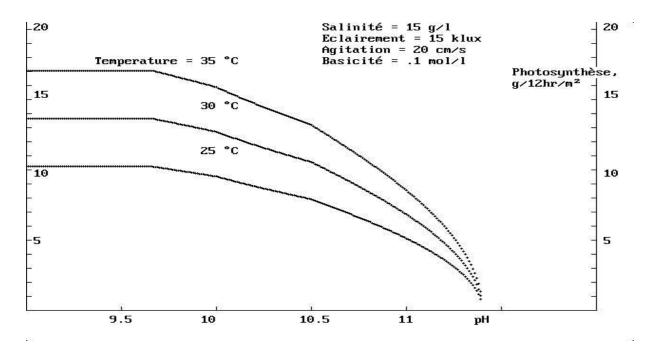
Voici quelques exemples de ces fonctions, qui sont largement inspirées de la thèse de Zarrouk (en tenant aussi compte de résultats expérimentaux).

[A noter que les résultats de Zarrouk dataient des années 1960. Trente ans plus tard Vonshak (Vonshak1997) a pu utiliser des méthodes beaucoup plus sophistiquées pour étudier la photosynthèse de la spiruline et en déduire que la spiruline était souvent « photoinhibée », plus ou moins selon la température, la salinité, la concentration, l'agitation et la souche. Nous en restons ici au modèle Zarrouk, plus imparfait mais plus simple] :

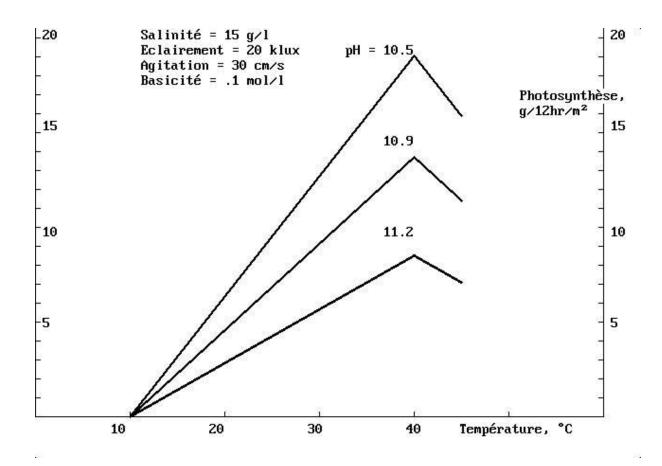
.



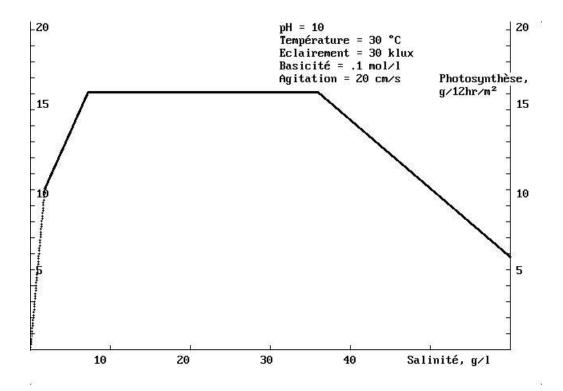
Vitesse photosynthèse de la spiruline en fonction de l'éclairement d'après la thèse de Zarrouk, Fig. 3 (<u>BIBLIOGRAPHIE Zarrouk</u>)



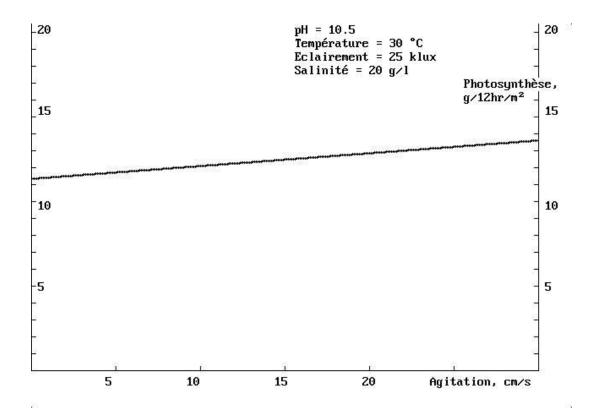
Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction du pH d'après la thèse de Zarrouk, Fig. 20



Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction de la température de la culture d'après la thèse de Zarrouk, Fig 19.



Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction de la salinité du milieu d'après la thèse de Zarrouk, Tableau IV



Vitesse de photosynthèse en fonction de l'agitation (fonction plus ou moins imaginaire, dans laquelle intervient aussi le pH, valable pour systèmes d'agitation habituels jusqu'à la vitesse de 30 cm/s; il est possible qu'avec des systèmes perfectionnés l'on puisse majorer nettement la vitesse de photosynthèse, mais nous n'en avons pas encore l'expérience : au delà de 30 cm/s la fonction est prévue pour tenir compte de cet effet, mais sans aucune base expérimentale quantifiée)

#### A2) Mesure de la concentration en spirulines

Le "disque de Secchi" (instrument constitué d'une baguette de 30 cm de long, graduée en centimètres, portant à son extrémité inférieure un disque blanc) permet une mesure approximative, assez subjective, qui dépend du sujet, de l'éclairage, de l'angle, de la dimension du disque et de la turbidité du milieu de culture ("turbidité" = trouble + coloration) et pour une large part de la morphologie des filaments de spiruline, laquelle dépend en partie de la salinité du milieu. Les données ci-dessous ont été établies pour des salinités voisines de 12 g/litre.

Avant de mesurer, agiter pour homogénéiser, puis laisser décanter les boues quelques minutes. On note la profondeur, en centimètres, où il devient juste impossible de distinguer le disque.

Chacun devrait déterminer sa propre corrélation profondeur-concentration-turbidité, dans des conditions standard : filtrer un volume connu sur papier filtre (préalablement séché à l'étuve et pesé), presser délicatement et sécher à l'étuve, puis peser. Les deux tableaux cidessous ont été établis par l'auteur avec un disque blanc de 3 cm de diamètre sous un éclairage de 4000 lux (ombre pas trop sombre).

La turbidité est mesurée sur filtrat sans spiruline, avec un disque noir (voir A6.1.2 <u>Turbidité</u>).

#### SECCHI POUR SOUCHE SPIRALEE

- Turbidité nulle (>30 cm)
  - 1,0 cm = 1,05 g/l
  - 1.5 cm = 0.75
  - 2.0 cm = 0.55
  - 2,5 cm = 0,43
  - 3.0 cm = 0.34
  - 4,0 cm = 0,24
  - 5.0 cm = 0.19
  - 8.0 cm = 0.10
- Turbidité 12 cm
  - 2.0 cm = 0.5 g/l
    - 3.0 cm = 0.3
    - 4.0 cm = 0.21
    - 5.0 cm = 0.16
- Turbidité = 6 cm
  - 1,0 cm = 0,75 g/l
  - 2.0 cm = 0.35
  - 3.0 cm = 0.19
  - 4.0 cm = 0.10
  - 5.0 cm = 0.05

#### SECCHI POUR SOUCHE ONDULEE

- Turbidité nulle (>30 cm)
  - 1,0 cm = 1,0 g/l
  - 1,5 cm = 0,55
  - 2.0 cm = 0.40
  - 3.0 cm = 0.24
  - 4.0 cm = 0.16
  - 5.0 cm = 0.11
  - 8.0 cm = 0.06
- Turbidité = 6 cm
  - 1,0 cm = 0.85 g/l
  - 1,5 cm = 0,50
  - 2,0 cm = 0,35
  - 3.0 cm = 0.20
  - 4.0 cm = 0.10
  - 5.0 cm = 0.05
- Turbidité = 4 cm
  - 1.0 cm = 0.70 g/l
  - 1,5 cm = 0,36
  - 2.0 cm = 0.20
  - 2,5 cm = 0,11
  - 3.0 cm = 0.06
- <u>N.B.</u> 1) Jacques Falquet, d'Antenna Technologie, a mis au point un "Secchi électronique" dont la réponse est indépendante de la lumière et de l'opérateur, mais pas des autres facteurs.
- 2) L'utilisation d'un instrument pour mesurer la concentration en spiruline devient en général inutile lorsque l'opérateur a acquis suffisamment d'expérience. Il sait juger la concentration d'après l'apparence de la culture.

- 3) La concentration en spiruline peut aussi se mesurer au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 560 nm comme l'a fait Zarrouk dans sa thèse : il avait trouvé que 1 unité de densité optique correspond à 0,7 g de spiruline par litre.
- 4) La non prise en compte de la correction pour turbidité peut conduire à surestimer gravement la concentration et la productivité (si on la calcule à partir des concentrations mesurées).

# A3) Mesure de la salinité du milieu de culture avec un densimètre

On admet que la présence de spirulines dans un milieu de culture ne modifie pas sa densité.

On utilise un densimètre pour densités supérieures à 1 (comme ceux vendus dans les boutiques d'aquariophilie ou pour mesurer la densité des urines). La lecture se fait au niveau inférieur du ménisque. Attendre que les microbulles d'air soient éliminées avant de faire la lecture.

La densité DT à la température T °C et la densité D20 à 20°C sont reliées par la formule:  $D20 = DT + 0,325 \times (T - 20), g/I$ 

La salinité SAL et D20 sont reliées par les formules approchées suivantes pour milieu de culture à base de sels de cendres ou de bicarbonate de sodium :

```
si D20 est supérieure à 1007,6 :

SAL = 1,250 x (D20 - 1007,6) + 10, g/litre

ou sinon par:

SAL = 1,041 x (D20 - 998), g/litre
```

Un petit programme (voir <u>CALCUL</u>) permet de calculer facilement la salinité à partir de la température du milieu et de sa densité mesurée à cette température. Il permet de faire la même opération sur des solutions de NaCl et de carbonate de sodium.

N.B. Il existe d'autres instruments, plus modernes, pour mesurer la salinité : le conductivimètre et le réfractomètre. On note l'équivalence approximative suivante : 1 g/l =  $2000 \,\mu\text{S/cm}$ .

### A4) Mesure du pH d'un milieu de culture

Seul un pHmètre de bonne qualité et bien étalonné permet de suivre l'évolution fine du pH d'une culture et de régler éventuellement la marche de la culture tout près du pH maximum autorisé de 11,2.

Le pH varie avec la température. Le pH mesuré à T°C doit être majoré de K x (T - 25) pour obtenir la valeur à la température standard de 25°C, le coefficient K dépendant de l'électrode et du milieu. Dans la pratique K varie dans la plage 0,006 à 0,018.

Certains pH-mètres sont équipés d'une échelle en milliVolts plus robuste que l'échelle en pH. Elle permet de calculer le pH à partir de l'indication en mV par la formule théorique:

pH à T°C = 
$$(K1 - mV) \times K2/(273 + T)$$

où K1 et K2 sont deux constantes dépendant de l'électrode (électrode de verre) qu'on détermine par étalonnage à partir de solutions étalons de pH. Cette formule peut s'écrire, pour T = 25°C:

$$pH = A - mV/B$$

où A est le pH pour 0 mV et B est la pente en mV/ unité de pH. Des valeurs usuelles sont par exemple A = 7 et B = 50. La valeur des mV mesurés ne dépend pratiquement pas de la température, ce qui est heureux car cela dispense de faire une correction de température: il suffit d'appliquer la formule à la température de référence.

Pour prolonger la durée de vie d'un pH-mètre, le conserver à l'abri de l'humidité. Pour prolonger la durée de vie de son électrode, maintenir l'extrêmité sensible de l'électrode dans une solution saturée de chlorure de potassium dans l'eau distillée, à température supérieure à 15°C, et la rincer soigneusement avant et après les mesures, à l'eau propre et si possible distillée. Si des moisissures s'installent dans la solution de KCI, mieux vaut la renouveler.

La fragilité, la durée de vie limitée des électrodes, et leur coût élevé, rendent difficile l'utilisation d'un pH-mètre professionnel dans beaucoup de situations. Un pH-mètre bon marché, type "stylo", réétalonné fréquemment, peut rendre service, mais sa durée de vie risque d'être courte. Les papiers pH ne sont pas assez précis.

Les solutions étalons de pH vendues dans le commerce sont coûteuses, mais il est possible de les économiser en utilisant les solutions étalons approximatifs suivants (conserver celles à pH moyens à l'abri de la lumière pour éviter que des algues s'y développent spontanément) dont les pH indiqués correspondent à 25°C:

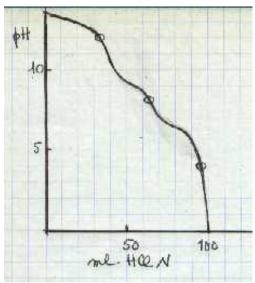
- acide chlorhydrique N (36,5 g/l): pH 0,1; N/10: pH 1; N/100: pH 2
- jus de citron: pH 2,3
- vinaigre "à 6 degrés" (6% d'acide acétique, densité 1,01): pH 2,8
- solution aqueuse à 5,8 g/l de phosphate monoammonique: pH 4
- jus de tomate: pH 4
- solution aqueuse à 5,8 g/l de phosphate monoammonique + 11 g/l de bicarbonate de sodium: **pH 7**
- bicarbonate de sodium N/10 (8,4 g/l): pH 8,3
- solution aqueuse à 5,3 g/l de carbonate de sodium + 4,2 g/l de bicarbonate de sodium (ou 1,4 g/l de soude + 5,46 g/l de bicarbonate de sodium) à l'équilibre avec l'atmosphère (conserver en contact avec l'atmosphère extérieure, ne pas boucher le récipient, rajouter de l'eau pour compenser l'évaporation): **pH 9,8** (varie un peu selon teneur de l'air en CO2 et l'altitude)
- carbonate de sodium N/10 (10,6 g/l): pH 11,6
- soude N/100: pH 12; N/10: pH 13; N (40 g/l): pH 14

N.B. Avec de l'expérience il est possible de se passer de pH-mètre pour conduire une culture de spiruline, surtout si l'on cultive sous ombrage ou avec addition de bicarbonate de sodium ou de sucre.

#### A5) Mesure de l'alcalinité (alcalimétrie)

On neutralise progressivement un échantillon du milieu de culture ou de l'eau de cendre à étudier par un acide fort de normalité connue (par exemple 100 ml d'acide chlorhydrique concentré + 900 ml d'eau déminéralisée donne de l'acide "N", c'est-à-dire à une molécule-gramme/litre) jusqu'à pH = 4. Soit V le volume d'échantillon et V' le volume d'acide N utilisé. L'alcalinité est égale à V'/V, moles/litre. N.B.: la chute du pH est très brusque en dessous de 4. Si le titre de l'acide n'est pas exactement N, corriger V' proportionnellement.

Exemple: alcalimétrie sur 200 ml d'eau de cendre partiellement carbonatée:



Sur ce graphique, à pH 4 on lit V' = 96 d'où alcalinité totale 96/200 = 0,48 N (soit 0,48 mole de base/litre). A pH 12 on lit V' = 33 d'où potasse libre 33/200 = 0,165 N.

A pH 8 on lit V' = 62 d'où carbonate de potasse = (62 - 33)/200 = 0,145 mole/l.

L'inflexion à pH 8 correspond à la transition carbonate/bicarbonate de sodium (ici il n'y avait pas de bicarbonate de sodium dans l'échantillon, celui qu'on dose provient de l'acidification du carbonate). Ce qu'on appelle couramment "alcalinité" ou "basicité" correspond à l'alcalinité totale mesurée à pH 4.

N.B. Si l'on n'a pas de ph-mètre, on peut utiliser un indicateur coloré virant autour de pH = 4, comme le méthylorange (10 gouttes de solution aqueuse à 1 % pour 100 ml d'échantillon à étudier) qui vire de l'orange au rouge, ou le papier au "rouge Congo".

Attention: L'acide chlorhydrique "concentré" vendu dans certains pays n'est qu'à 20% d'HCl.

#### A6) Tests de qualité faciles à réaliser

# A6.1) Test sur cultures

#### A6.1.1) Test de filtrabilité

Pour caractériser la vitesse de filtration, un test standard a été établi. Mesurer 400 g de culture à tester et la verser en 5 secondes dans un filtre à café garni d'un papier-filtre type "Grand Jury" N° 4 ou équivalent. Noter le poids filtré en une minute après la fin du versement. Un poids supérieur à 250 g correspond à une filtration facile. Ne pas négliger l'effet de la température ni de la nature du papier sur ce test. Il est recommandé d'établir sa propre échelle de valeurs avec le type de papier disponible. Il est intéressant de refaire le test sur le filtrat obtenu, ce qui donne une indication sur la part de résistance à la filtration due à la biomasse et celle due aux impuretés du milieu. Dans le cas de milieux très peu sales, il faut affiner la comparaison, en prenant du milieu neuf comme référence, et en comparant avec le poids de milieu neuf filtré (il reste environ 10 g de liquide dans le papier filtre et les récipients de mesures, donc le meilleur résultat possible est 390 g).

#### A6.1.2) Mesure de la turbidité du milieu de culture

Elle se fait à l'ombre sur le filtrat obtenu lors du test de filtration (A6.1.1), comme une mesure de concentration au disque de <u>Secchi</u>. Un disque de Secchi noir est préférable si la coloration est faible. Attendre que la mousse et les microbulles d'air soient éliminées avant de faire la lecture. Attention : les spirulines filtrant mal ont tendance à passer à travers le

papier filtre, en rendant vert le filtrat ; dans ce cas il peut être préférable de refiltrer le filtrat sur papier double pour éliminer les spirulines avant de mesurer la turbidité vraie du milieu.

On constate que la dégradation initiale d'un milieu se détecte bien plus finement par la turbidité que par le test de filtration. Ainsi un filtrat de turbidité 25 cm peut très bien aller de pair avec un poids filtré pratiquement égal à 100 % de la référence. Alors que la turbidité d'un milieu neuf est très supérieure à 35 cm.

## A6.1.3) Mesure de l'aptitude au lavage de la biomasse

Après le test de filtrabilité (§ A6.1.1), verser 400 ml d'eau douce dans le filtre en délayant la biomasse et noter le volume filtré en une minute. Si la biomasse est du type "lavable" (ses cellules n'éclatant pas au contact de l'eau douce) ce volume reste proche de celui du test de filtrabilité. Confirmer par un examen microscopique de la biomasse lavée.

# A6.2) Tests sur spiruline

# A6.2.1) Test de pH

Il est facile d'obtenir une idée de la qualité du lavage ou de l'essorage de la biomasse, soit en prenant le pH de la biomasse pressée (qui doit être entre 7 et 9), soit en mesurant le pH d'une suspension à 4 % de spiruline sèche dans l'eau. Lorsqu'une spiruline a été séchée à température assez haute (60 à 65°C) et qu'elle est réhydratée, ses cellules éclatent et le pH baisse, jusqu'à 5 parfois. Le pH obtenu est d'autant plus bas que la spiruline est bien essorée. Ce bas pH serait du à l'acidité interne des cellules et/ou à la fermentation commençante.

# A6.2.2) Estimation des pigments

Dans le test de pH du § précédent les pigments sont libérés et il est possible de les voir et de juger de leur concentration. Le bleu est parfois lent à sortir (attendre 24 heures par sécurité, en agitant de temps en temps). Parfois il faut préalablement au test chauffer quelques minutes la poudre à 65 °C pour mieux faire éclater les cellules.

Pour apprécier la concentration en phycocyanine (pigment bleu), il suffit de mettre une goutte de solution décantée sur un papier buvard ou papier filtre bien plat et horizontal: on obtient un chromatogramme très net; la coloration et la surface de la tache bleue est une indication de la concentration en phycocyanine. Faire un test parallèle avec une spiruline de concentration connue en phycocyanine, avec la même concentration (4 % dans l'eau), et faire la comparaison des taches à partir de gouttes de même volume.

Pour apprécier la concentration en caroténoïdes (donc en béta-carotène qui représente environ la moitié des caroténoïdes), mélanger à la spiruline sèche en poudre 4 fois son poids d'alcool à 90° (alcool à brûler) ou d'acétone, agiter, couvrir et attendre 5 heures : les caroténoïdes passent en solution, et leur couleur jaune-brun plus ou moins forte est une mesure approximative de leur concentration. Agiter, décanter les restes de poudre et utiliser le système de la tache sur papier filtre pour l'apprécier. Attention : la coloration de la tache est labile (elle s'efface peu à peu par oxydation).

#### A6.2.3) Test de couleur

La couleur verte de la spiruline de bonne qualité est facile à repérer. On peut avoir en stock des échantillons de référence pour comparaison. La nuance de vert dépend de la souche (la spiralée est moins foncée que l'ondulée) et du traitement (pressage., extrusion, centrifugation).

#### A6.2.4) Dosage colorimétrique simplifié de la phycocyanine

Une méthode plus précise pour mesurer la teneur en pigments est la colorimétrie. Partir de la même solution type "test de pH" qu'en Annexe A6.2.1. Soit C % la concentration de spiruline sèche mise à tremper dans l'eau autour de 4 %. Laisser décanter et prélever la solution bleue, la centrifuger si l'on dispose d'une centrifugeuse de laboratoire. Prélever la solution centrifugée ou bien décantée: environ 0,5 à 1 ml. Diluer ce prélèvement d'un facteur de 100 environ avec de l'eau. Soit DIL ce facteur de dilution, en volume. Mesurer au colorimètre ou spectrophotomètre (cuve à trajet optique 11 mm) la densité optique (DO) à 615 nanomètre (nm) de longueur d'onde, DO615, et à 652 nm, DO652. Calculer le % en poids de phycocyanine par la formule:

### 1,873 x (DO615-0,474 DO652) x DIL /C

Une valeur correcte est: > 10 % de la spiruline sèche.

N.B. La DO est égale au logarithme (base 10) du rapport lumière incidente/lumière transmise ou du rapport 100 / (% de transmission) ou 100/ (100 - % d'absorption).

### A6.2.5) Dosage colorimétrique simplifié des caroténoïdes

Ajouter 25 % d'acétone ou, à défaut, d'alcool à 90°, à une suspension type "test de pH" cidessus, et la maintenir 24 heures au réfrigérateur. Soit C la concentration en spiruline dans cette suspension. Décanter, et si possible centrifuger, et prélever P ml de la solution (environ 0,5 ml). Diluer à l'acétone ou à l'alcool. Soit DIL le facteur de dilution en volume. Mesurer la densité optique à 450 nm. Soit DO450 cette densité. La concentration en caroténoïdes dans la spiruline s'obtient par la formule:

#### DO450 x DIL / 2,8 / C, mg/g

Une valeur correcte est 2,5 mg/g. Le béta-carotène représente environ la moitié des caroténoïdes.

N.B. La DO est égale au logarithme (base 10) du rapport lumière incidente/lumière transmise ou du rapport 100 / (% de transmission) ou 100/(100 - % d'absorption).

### A6.2.6) Dosage de l'humidité dans la spiruline sèche (% d'eau)

Mettre la spiruline à tester (environ 200 g, inutile de peser) dans un récipient genre "Tupperware" (deux litres maximum), étanche et suffisamment transparent pour pouvoir lire l'hygromètre digital placé (scotché) à l'intérieur. Suivre l'évolution du % d'humidité relative (% HR) de l'air dans le récipient jusqu'à l'équilibre (environ 2 heures) : si ce % est inférieur à 45, la spiruline est conforme à la norme (< 9 % d'eau). Pour que la mesure soit exacte il faut que l'ensemble de mesure soit en équilibre non seulement d'humidité mais de température autour de 25°C.

Dans le domaine qui nous intéresse (%HR entre 10 et 60), le % d'eau dans la spiruline est égal à 1 + (%HR)/6 d'après nos mesures et d'après Lembi (BIBLIOGRAPHIE)..

### A7-1) Absorption du gaz carbonique atmosphérique par le milieu de culture

Nous avons mesuré la vitesse d'absorption du CO2 de l'air en suivant la décroissance du pH du milieu de culture sans spiruline, avec agitation faible et intermittente. Connaissant la surface exposée à l'air, la concentration en alcali, le volume par m² et la correspondance entre pH et C = rapport molaire CO2/base (voir <u>Annexe 11</u>), il est facile d'en déduire la vitesse d'absorption du CO2 en fonction du pH. On trouve des valeurs croissantes de 0 pour

le pH correspondant à l'équilibre avec l'air (vers pH 9,8), à l'équivalent d'environ 4,5 g de spiruline/jour/m² vers pH 11.

La théorie dit que la vitesse d'absorption est proportionnelle au coefficient d'absorption et à la différence des pressions de vapeur de CO2 dans l'air et sur le liquide. La pression de vapeur du CO2 sur une solution de carbonate/bicarbonate de sodium est donnée dans la littérature. Kohl et Riesenfield (1960) donnent dans "Gas Purification" de Kohl (BIBLIOGRAPHIE) à la page 117, une formule ayant comme variables la température, l'alcalinité et le rapport c (moles de CO2/mole de base), en mmHg:

```
pCO2 = 68.5 \times b^{1.29} \times (2c - 1)^2 / [(1 - c) \times (333 - 1.8 \times t) \times (0.0487 - 0.0006 \times t)]

où

b = alcalinité du milieu absorbant, gmoles de base forte/litre

c = rapport molaire CO2/base correspondant au pH du milieu

t = température du milieu,°C
```

L'absorption du CO2, exprimé en g de spiruline/jour/m² (en admettant 1,8 kg de CO2 par kg de spiruline) se calcule alors par la formule:

```
0,772 x ka x [0,00076 x vpm x (1 - alt/10000) - pCO2]
```

où:

ka = coefficient d'absorption, gmoles de CO2 absorbés/heure/m²/atmosphère vpm = teneur de l'air en CO2, ppm volumiques alt = altitude, mètres 0,772 = (44 x 24)/(1,8 x 760)

La valeur de ka moyenne résultant des mesures d'absorption directes et indirectes (productivités des bassins de spiruline alimentés en carbone uniquement à partir de l'air) se situe autour de 23. Nos mesures directes effectuées en 1991 en bassines donnaient ka = 25. En août 1999 un bassin de 6  $m^2$  a été rempli de 1000 litres de milieu de culture à base de soude N/10 et agité comme une culture normale. Son pH est tombé de 12,44 à 10,68 en 16 jours, ce qui correspond à ka = 24. Donc ka = 20 donne une marge de sécurité importante.

#### A7-2) Analyse du CO2 dans l'air

La formule ci-dessus (§ A7-1) donnant pCO2 permet de mesurer la teneur de l'air en CO2 avec un matériel très simple, alors qu'un analyseur à infrarouge coûte 4000 U.S.\$. Il suffit de faire barboter un petit débit d'air (mini compresseur d'aquarium) à travers un diffuseur au fond d'une éprouvette contenant une solution de bicarbonate de sodium à 8,4 g/l (alcalinité 0,1 N), et de mesurer le pH à l'équilibre. Le résultat dépend de la température de la solution. Cette méthode est évidemment inadaptée aux changements brusques de teneur de l'air en CO2, à cause de l'inertie de la solution. Pour diminuer cette inertie on a intérêt a réduire le volume de solution et à diviser finement le gaz barbottant.

Pour des mesures à long terme, conserver l'éprouvette à l'abri de la lumière pour éviter son verdissement et ajouter de l'eau distillée pour maintenir le niveau s'il y a évaporation (si la température de la solution est inférieure à la température de rosée de l'air analysé, la solution se diluera progressivement : dans ce cas il faut rajouter du bicarbonate de sodium pour maintenir sa alcalinité à 0,1 N).

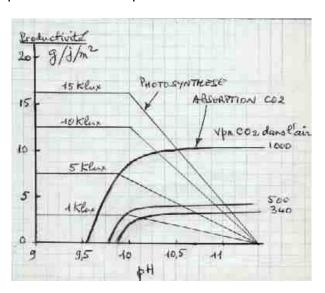
Un petit programme (voir <u>CALCUL</u>) permet de calculer très facilement la teneur de l'air en CO2 (en vpm = volumes par millions) en fonction de la température et du pH de la solution à l'équilibre. Le programme fournit un tableau pH/vpm pour chaque température désirée.

# A7-3) pH d'un milieu de culture en équilibre avec l'atmosphère

Il est facile de calculer ce pH en combinant les deux équations données au § A7-1 (<u>absorption</u>). Pour faciliter ce calcul un petit programme (voir <u>CALCUL</u>) été écrit.

# A8) Interaction Photosynthèse/Absorption de CO2

Ce graphique présente des exemples de variation de la vitesse d'absorption du CO2 de l'air



en fonction de la teneur de l'air en CO2 et du pH du milieu de culture, calculée d'après la formule donnée en Annexe A7 (<u>formuleCO2</u>), et exprimée en équivalant spiruline à raison de 1,8 g/g de spiruline, pour les conditions suivantes : altitude = 0, température = 30°C, ka = 18 et alcalinité = 0,1 N. On voit qu'il y a peu à gagner à travailler à pH > 10,3. Sur ce même graphique ont été reportées des exemples de variation de la vitesse de photosynthèse, exprimée dans la même unité que l'absorption du CO2 (en productivité de spiruline), en fonction du pH, pour une luminosité données, en l'absence d'autres facteurs limitant. Ces exemples ne sont donnés qu'à titre illustratifs sans valeur précise des paramètres autres que le pH, simplement pour faire saisir le mécanisme de l'interaction. photosynthèse/absorptoion du CO2.

Si l'on suit une de ces courbes de vitesse de photosynthèse en partant du pH minimum, on voit que cette vitesse diminue au delà de pH 10. Simultanément la vitesse d'absorption du CO2 croit et il vient un moment où les deux vitesses sont égales (les deux courbes se croisent): à partir de là, le pH ne peut plus continuer à croître; ce point d'équilibre correspond à la vitesse de photosynthèse sous une atmosphère ayant la teneur en CO2 indiquée. Le pH à l'équilibre correspondant est d'autant plus haut que les conditions de photosynthèse (lumière, agitation) sont meilleures et que la teneur en CO2 de l'air est plus basse.

A9) Productivité en fonction de l'ombrage, exemple calculé par Modèle de simulation, avec taux de purge 1 % et avec ajout de 18 g CO2/jour/m² :

0 % d'ombre = 14,3 g/jour/m<sup>2</sup>

```
50 % d'ombre = 13,3 g/jour/m²
75 % d'ombre = 9.9 g/jour/m²
80 % d'ombre = 8,4 g/jour/m²
```

On voit la faible influence du taux d'ombrage jusque vers 50 %.

# A10) Consommation d'eau en fonction de l'ombrage, exemple calculé par Modèle de simulation, avec taux de purge 1 % et avec ajout de 18 g CO2/jour/m² :

0	% d'ombre	=	732	litres d'eau/kg de spiruline
65	% d'ombre	=	556	litres d'eau/kg de spiruline
75	% d'ombre	=	623	litres d'eau/kg de spiruline
80	% d'ombre	=	698	litres d'eau/kg de spiruline

Il existe un minimum de consommation d'eau vers 65 % d'ombrage.

# A11) Correspondance entre pH et rapport molaire C = CO2/base (soude ou potasse)

Cette relation est d'une grande importance pour de nombreux calculs intéressant la culture de spiruline. Elle a été établie expérimentalement dans la gamme usuelle d'alcalinité (autour de 0,1). Elle dépend faiblement de la valeur de l'alcalinité.

Un petit programme de calcul reproduit cette relation (voir CALCUL).

#### A12) Mélanges de carbonate et bicarbonate de sodium

a) Pour obtenir une solution aqueuse ayant les caractéristiques suivantes : rapport molaire CO2/base forte = C et alcalinité b moles/litre, on peut dissoudre les produits suivants dans un litre d'eau :

Carbonate de sodium =  $106 \times b (1 - C)$ , grammes

+ Bicarbonate de sodium = 84 x b x (2C - 1), grammes

En mariant cette relation avec celle de l'Annexe A11 on peut calculer les mélanges carbonate + bicarbonate de sodium donnant un pH désiré pour une alcalinité donnée.

b) Pour passer d'une solution caractérisée par Ci et b à une solution caractérisée par Voir et b, on peut ajouter à un litre de la première

(Voir - Ci) / (1 - Voir) = E, litre d'eau + 84 x E x b, grammes de bicarbonate de sodium.

Mise en garde : le carbonate de sodium acheté peut être un mélange de carbonate et bicarbonate de sodium (soit par bicarbonatation naturelle du carbonate stocké dans certaines conditions, soit parce qu'il s'agit de natron ou trona) ; avant d'utiliser du carbonate vérifier sa teneur en bicarbonate en prenant le pH d'une solution à 5 g/l.

# A13) Neutralisation de l'eau de cendre par le bicarbonate de sodium

L'extrait aqueux de cendres de bonne qualité présente généralement un très haut pH lorsqu'il vient d'être fait, jusqu'à 13. Avant de l'utiliser comme base de milieu de culture il faut attendre longtemps (par exemple 15 jours) pour que son pH baisse suffisamment par absorption de CO2 de l'air.

Un artifice pour rendre de tels extraits utilisables instantanément est d'y dissoudre du CO2 pur ou du bicarbonate de sodium. La quantité de bicarbonate de sodium ("bicarb") à ajouter pour abaisser le pH à 10,5 peut être calculée par l'une ou l'autre des formules suivantes:

bicarb = 
$$187 \times (0.55 - C) \times b$$
, g/l  
bicarb =  $1.83 \times S - 234 \times C \times S / (56 + 26 \times C)$ , g/l

formules où:

C = rapport molaire CO2/base, déterminé à partir du pH (voir Annexe 11)

b = normalité alcaline de l'eau de cendre, moles/l

S = salinité alcaline (potasse + carbonate de potasse) de l'eau de cendre, g/l = b x (56 + 26 x C)

N.B. La salinité alcaline S peut se calculer approximativement à partir de la salinité totale déterminée par la densité (en général la salinité alcaline représente les 2/3 de la salinité totale), mais il est plus précis de la déterminer par alcalimétrie à partir de C et b.

Exemple: Une eau de cendres a une densité de 1,013 et un pH de 12,45 à 25°C, soit une salinité totale de 18 g/l et C = 0,4; l'alcalimétrie donne b = 0,2 soit une salinité alcaline S = 13,3; bicarbonate de sodium à ajouter = 5,6 g/l.

Application aux solutions de soude caustique :

L'obtention de milieux de culture à base de soude caustique peut être considérée comme un cas particulier de la neutralisation de l'eau de cendre (laquelle est une solution de potasse caustique). Ce cas peut être utile lorsque le carbonate est plus rare que la soude, pour obtenir des milieux à pH moyen. Exemples de mélanges de soude et de bicarbonate de sodium pour b = 0,1 moles/litre:

- 6,1 g de bicarbonate de sodium + 1,2 g de soude par litre d'eau = pH 10,0
- 5,6 g de bicarbonate de sodium + 1,4 de soude par litre d'eau = pH 10,2
- 5 g de bicarbonate de sodium + 1,7 de soude par litre d'eau = pH 10,5

N.B. L'utilisation de soude caustique exige les précautions d'emploi classiques pour les produits caustiques (gants, lunettes).

#### A14) Composition de divers produits

(N.B.: ppm = mg/litre ou mg/kg)

Sel de mer brut (non raffiné) Analyse du sel de La Salorge de Guérande:

Phosphore: pratiquement 0; potassium: 1 à 2 g/kg; soufre: 3 à 7 g/kg; magnésium: 4 à 8 g/kg; calcium: 1 à 2 g/kg; cuivre: 2,5 ppm; zinc 0,5 à 2 ppm; manganèse: 4 à 8 ppm; fer 30 à 100 ppm.

#### Cendre de bois

Dumon donne la composition suivante de la cendre en g/kg: Phosphore: 43; soufre: 8; potassium 219; magnésium: 90; calcium 236; manganèse: 50; fer: 14. Teneur en solubles très variable (de 1 à 25 %).

Analyse moyenne de sels solubles extraits de cendres, vendus sur les marchés burkinabés : mélange de carbonate de potassium et bicarbonate de potassium (à 15 % en poids de

bicarbonate de potassium) avec 10 % de sulfate dipotassique, 0,1 % de phosphate et de calcium et des traces de magnésium.

La solubilité du magnésium et du calcium contenus dans la cendre dépend beaucoup du pH: presque nulle à pH 13, elle est notable à pH 10 (environ 100 ppm de magnésium dans l'eau de cendre, qui est par ailleurs très riche en soufre: 1500 ppm).

D'après <a href="http://www.woodash.net/chart.html">http://www.woodash.net/chart.html</a> :

Range in elemental composition of industrial fly ash and bottom ash samples					
Element	Fly Ash	Bottom Ash			
Boron	16.9 (8.6-22.4)	1.0 (0.7-1.3)			
Potassium	19236-29526	12572-19634			
Arsenic	1.0 (1.0-1.0)	1.0 (1-1.0)			
Copper	53.5 (39.5-81.5)	31.3 (24.8-28.0)			
Nickel	17.3 (14-24)	14.0 (13-15)			
Cadmium	9.6 (3.0-21.1)	5.0 (2.0-13.1)			
Lead	11.0 (4-20)	7.7 (5-10)			
Selenium	1.0 (1.0-1.0)	1.0 (1.0-1.0)			
Cobalt	6.4 (5.3-8.7)	4.6 (4.2-4.9)			
Mercury	0.01 (.01-0.01)	0.01 (0.01-0.02)			
Zinc	886 (522-1529)	497 (348-896)			
Chromium	26.0 (17.0-40.7)	20.3 (16.0-25.4)			
Molybdenum	11.3 (7-18)	3.0 (1.0-6.0)			

<sup>\*</sup> Mean and (Range) taken from analysis of 7 ash samples\* All results expressed as mg/kg unless otherwise stated

La cendre de bois a une composition très variable en fonction des essences mais aussi de la température de combustion, le potassium et le bore étant volatils au-dessus de 1000°C, d'après "Wood ash composition as a function of furnace temperature", Mahendra K. Misra et al. in Biomass and Bioenergy Vol.4, N°2, pp 103-116 (1993), Pergamon Press (<a href="http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1993/misra93a.pdf">http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1993/misra93a.pdf</a>). Cet article donne (page 111) les compositions élémentaires suivantes pour des cendres obtenues à 600°C, en g/kg de cendres:

- Pin : Ca = 290.5; K = 162.4 ; Mg = 70.3 ; S = 10.7 ; P = 8.4 ; Mn = 40.4 ; Zn = 3.6 ; Fe = 5.8 ; Al = 4.7 ; Na = 0.6 ; B = 0.6 ; Cu = 0.4
- Peuplier: Ca = 256,7; K = 79,3; ;Mg = 90,9; S = 10,2; P = 9,5; Mn = 4,5; Zn = 0,4
   Fe = 3,2; AI = 3,5; Na = 2,3; Si = 0,11; B = 0,5; Cu = 0,3
- Chêne blanc : Ca = 313,5 ; K = 102,5 ; Mg = 75,7 : S = 12,1 ; P = 5,6 ; Mn = 1,4 ; Zn = 0,8 ; Fe = 0,9 ; AI = <0,6 ; Na = <0,3 ; Si = 1,3 ; B = 0,4 ; Cu = 0,2

#### **Eaux**

Les eaux de rivière ont en moyenne les teneurs typiques suivantes (en ppm): fer = 0,1; calcium = 40; magnésium = 14; soufre = 6. L'appoint d'eau au bassin apporte alors généralement assez de magnésium et de soufre.

L'eau du puits de la Cté du Pain de Vie à Arequipa, Pérou a les teneurs suivantes (en ppm): calcium = 72; magnésium = 16; soufre = 50; potassium et phosphore = négligeables. Si l'évaporation est de 2,4 mm/jour, l'appoint d'eau apporte le soufre et le magnésium, et bien sûr le calcium, pour 20 g de spiruline/jour/m².

L'eau du puits du Foyer de Charité de Bangui (RCA) ne contient pratiquement ni calcium ni magnésium ni fer. Il en est de même de l'eau de la ville de Linares, Chili.

L'eau du puits de l'Ecole d'Agriculture de Catemu, Chili, contient 96 ppm de calcium, 34 de magnésium et 130 de soufre.

Analyse de l'eau d'un lac à spirulines près de Tuléar (Madagascar) : sel = 35 g/l; bicarbonate + carbonates de sodium (pH 10) = 16 g/l; soufre (des sulfates) = 0,5 g/l; fer = 0,44 ppm; calcium = 6,5 ppm; magnésium = 80 ppm; phosphore = 3,6 ppm; azote = 0,3 ppm (dont 0,2 ammoniacal).

Eau du Gardon de Mialet : 22 ppm de calcium et 2,4 ppm de magnésium

Eau de mer (ppm): fer: 0,002 à 0,02 ; calcium: 400; magnésium: 1272; phosphore: 0,001 à 0,01; soufre: 900; bicarbonate < 150.

#### Urine humaine

Elle contient : Azote = 7 à 12 g/l; phosphore = 0,5 à 0,7 g/l; potassium = 2 à 3 g/l; soufre = 0,8 à 1,2 g/l; sel (chlorure de sodium) = 12 g/l; calcium = 0,13 g/l; magnésium = 0,1 g/l; fer = 0,3 mg/l; sucres = 0,15 g/l. Sa "production" est d'environ un litre par jour par personne.

### Nitrate du Chili (Salitre potásico)

Ce produit naturel correspond à 2 NaNO3.KNO3; il contient 15 % d'azote, 18,4% de sodium, 11,6% de potassium, 1% de soufre (sous forme de sulfates), ainsi que: 0,12% de calcium, 0,14% de magnésium et de nombreux oligo-éléments (tous les micronutrients nécessaires pour la spiruline). Il est coloré en rose. A ne pas confondre avec le KNO3 (blanc) pur, extrait du salitre, donc également "naturel".

Sang: Azote: 350 mg/l; phosphore: 30 à 70 mg/l; fer: 9 g/l

A15) Matériel de laboratoire utile : voir Annexe 29

# A16.1) Produits chimiques Produits chimiques utiles pour la spiruline

(Les % indiqués sont les % en poids sur produit pur sauf indication contraire; pm = poids molaire)

- Acide chlorhydrique HCl, pm = 36,5
- Acide citrique COOH-CH2-C(OH)(COOH)-CH2-COOH, pm = 192

- Acide orthoborique H3BO3, pm = 61,8 (17,14 % de bore)
- Acide phosphorique H3PO4, pm = 98 (31,6 % de phosphore)
- Acide sulfurique H2SO4, pm = 98 (32,7 % de soufre)
- Alum de chrome cristallisé, CrK(SO4)2, 12 H2O, pm = 499,4 (10,3 % de chrome)
- Ammoniac NH3, pm = 17 (82 % d'azote)
- Bicarbonate d'ammonium NH4HCO3, pm = 79 (17,7 % d'azote)
- Bicarbonate de sodium NaHCO3, pm = 84
- Bicarbonate de potassium KHCO3, pm = 100
- Butane C4H10, pm = 58 (82,8% de carbone)
- Carbonate de potassium K2CO3, pm = 138
- Carbonate de sodium Na2CO3, pm = 106
- Chaux Ca(OH)2, pm = 74 (54 % de calcium)
- Chlorure de calcium CaCl2, pm = 111 (36 % de calcium)
- Chlorure de manganèse cristallisé à 4 H2O, MnCl2.4H2O, pm = 198 (27 % de manganèse)
- Chlorure de potassium KCl, pm = 74,5 (52 % de potassium)
- Chlorure de sodium (sel de cuisine) NaCl, pm = 58,5 (60,7 % de chlore)
- Chlorure de zinc ZnCl2, pm = 136,3 (46,5 % de zinc) [hygroscopique!]
- EDTA (acide éthylène-diamino-tétracétique), pm = 292
- EDTA, sel disodique cristallisé à 2 H2O, pm = 372 (78 % d'EDTA)
- Gaz carbonique CO2, pm = 44 (27,3 % de carbone)
- Molybdate de sodium MoNa2O4,2H2O, pm = 242 (39,7% de molybdène)
- Nitrate d'ammonium ou ammonitrate (explosif à sec) NH4NO3, pm = 80 (35 % d'azote dont la moitié ammoniacal)
- Nitrate de calcium Ca(NO3)2, pm = 164 (24 % de calcium et 17 % d'azote)
- Nitrate de sodium NaNO3, pm = 85 (16,5 % d'azote; 72,9 % de NO3;

27 % de sodium)

- Nitrate de potassium KNO3, pm = 101 (13,9 % d'azote, soit 61,4% de N03; 38,6% de potassium; qualité technique à 91 % de pureté)
- Oxyde de molybdène, MoO3, pm = 143,9 (66 % de molybdène)
- Oxyde de sélénium, SeO2, pm = 111 (70,4 % de sélénium)
- Oxyde de zinc, ZnO, pm = 81,4 (80,3 % de zinc)
- Phosphore, pm = 31
- Phosphate monoammonique NH4H2PO4, pm = 115 (27 % de phosphore et 12 % d'azote ou 15 % de NH4)
- Phosphate diammonique (NH4)2HPO4, pm 132 = (23,4 % de phosphore et 21 % d'azote)
- Phosphate dipotassique K2HPO4, pm = 174 (17,8 % de phosphore et

44,8 % de potassium, pureté 97 %) [hygroscopique!]

- Phosphate disodique, Na2HPO4, 12H2O, pm = 358 (8,7 % de phosphore)
- Phosphate monopotassique KH2PO4, pm = 136 (22,7% de phosphore,

28,7% de potassium)

- Phosphate disodique Na2HPO4, 12 H2O, pm = 358 (8,7 % de phosphore)
- Phosphate tricalcique Ca3(PO4)2, pm = 310 (20 % de phosphore, 39 % de calcium), insoluble
- Phosphate trisodique, Na3PO4.12H2O, pm = 380 (8,1 % de phosphore)
- Potasse KOH, pm = 56 (70 % de potassium)
- Propane C3H8, pm = 44 (81,8 % de carbone)
- Salitre potassique: 15 % d'azote (soit 66 % de NO3), 18,4 % de sodium, 11,6 % de potassium, 1,2 g de calcium/kg, 1,4 g magnésium/kg, 10 g de soufre (soit 30 g de SO4)/kg
- Sélénite de sodium (Na2SeO3), pm = 173 (45,3 % de sélénium) [toxique]
- Soude NaOH, pm = 40
- Sucre (= saccharose = sucrose = C12H22O11), pm = 342 (42 % de carbone)
- Sulfate de calcium CaSO4, pm = 136 (29 % de calcium, 23,5 % de soufre), très peu soluble
- Sulfate de cobalt à 7 H2O, CoSO4.7H2O, pm = 281,1 (20,3 % de cobalt)
- Sulfate de cuivre cristallisé à 5 H2O, SO4Cu.5H2O,pm = 249,7 (24,9 % de cuivre)

- Sulfate de magnésium cristallisé à 7 H2O (sel d'Epsom) MgSO4.7H2O, pm = 246,5 (9,6 % de magnésium et 12,7 % de soufre, pureté 98 %)
- Sulfate dipotassique K2SO4, pm = 174 (44,8 % de potassium et 18,4 % de soufre)
- Sulfate de fer cristallisé avec 7 H2O, FeSO4.7 H2O, pm =278 (20 % de fer)
- Sulfate de zinc cristallisé à 7 H2O, ZnSO4.7H2O, pm = 287,4 (22,7 % de zinc)
- Urée CO(NH2)2, pm = 60 (46 % d'azote, qualité engrais agricole)

#### **OXYDES** (dans les engrais)

(pm = poids molaire)

- Anhydride phosphorique P2O5 : pm = 142 (43,7 % de phosphore)
- Anhydride sulfurique SO3 : pm = 80 (40 % de soufre)
- Oxyde de potassium K2O : pm = 94 (83 % de potassium)
- Oxyde de magnésium MgO : pm = 40 (60 % de magnésium)

# Principaux IONS utiles pour la spiruline

(= poids d'un ion-g)

- Ammonium  $NH_4^+ = 18$
- Calcium  $Ca^{++} = 40$
- Chlorure  $Cl^- = 35.5$
- Bicarbonate  $HCO_3^- = 61$
- Carbonate  $CO_3^- = 60$
- Fer ferreux  $Fe^{++}$ , ferrique  $Fe^{+++} = 56$
- Hydrogène (proton)  $H^+ = 1$
- Phosphate PO4<sup>---</sup>= 95 (32,6% de P)
- Potassium  $K^+ = 39$
- Magnésium  $Mg^{++}=24$
- Nitrate  $NO_3^- = 62 (22.6 \% \text{ de N})$
- Sodium  $Na^+ = 23$
- Sulfate  $SO_4^- = 96 (33.3 \% \text{ de S})$
- Zinc  $Zn^{++} = 65$

# Principaux cristaux peu solubles pouvant précipiter dans les boues de spiruline

- Carbonate de calcium CaCO<sub>3</sub>
- Hydroxyde de magnésium Mg(OH)<sub>2</sub>
- Hydroxyde de zinc Zn (OH)<sub>2</sub>
- Phosphate de calcium Ca<sub>3</sub>(PO4)<sub>2</sub>
- Phosphate de fer FePO4
- Phosphate de magnésium et d'ammonium MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O

#### A16.3) Masse atomiques des éléments intéressant la spiruline

Liste des noms, des symboles et des masses atomiques (arrondies) des éléments :

Azote = N = 14Bore = B = 11Calcium = Ca = 40

Carbone = C = 12Chlore = CI = 35,5Chrome = Cr = 52Cobalt = Co = 59Cuivre = Cu = 63.5Fer = Fe = 56Hydrogène = H = 1Magnésium = Mg = 24Manganèse = Mn = 55Molybdène = Mo = 96 Oxygène = 0 = 16Phosphore = P = 31Potassium = K = 39Sélénium = Se = 28 Sodium = Na = 23Soufre = S = 32Zinc = Zn = 65,4

# A16.4) Masses moléculaires des principaux oxydes et ions intéressant la spiruline

CO3 = 60 (73,3 % de CO2) HCO3 = 61 (72,1 % de CO2) K2O = 94 (83 % de K) NH4 = 18 (77,8 % de N) NO3 = 62 (22,6 % de N) MgO = 40 (60 % de Mg) P2O5 = 142 (43,7 % de P) PO4 = 95 (32,6 % de P) SO3 = 80 (40 % de S) SO4 = 96 (33,3 % de S)

#### A17) Normes de la spiruline en France

(Selon Arrêté du 21/12/1979)

Par rapport au poids sec, en ppm (mg/kg):

- Arsenic <= 3
- Plomb <= 5
- Etain <= 5
- Cadmium <= 0,5
- Mercure <= 0,1
- lode <= 5000

# Tant pour le produit frais que le sec :

- Germes aérobies (30°C) <= 100.000 / gramme
- Coliformes fécaux (44,5°C) < 10/ gramme
- Anaérobies sulfito-réducteurs (46°C) < 100/ gramme
- Clostridium perfringens <= 1/ gramme
- Staphylococcus aureus <= 100/ gramme
- Salmonella : absence dans 25 g.

N.B. Exemples de limites supérieures de pH pour la croissance de microorganismes des aliments (en présence de spirulines vivantes des valeurs différentes pourraient être obtenues) :

```
Staphylococcus = 9.8
Streptococcus = 9,3
Bacillus = 9.3
B. subtilis = 10
Clostridium botulinum = 8,5
Clostridium perfringens = 8,5
Clostridium sporogenes = 9
Lactobacillus = 8
E. coli = 10
Salmonella (y compris salmonella typhi) = 9
Vibrio parahaemolyticus (cause de gastroentérites) = 11
Vibrio cholerae = 9,6
Pseudomonas = 8
Candida = 9.8
Saccharomyces = 8,6
Penicillium = 11
Aspergillus = 9,3
Listeria monocytogenes = 9,6
```

#### A18) Limites de concentrations dans le milieu de culture

Tous les chiffres expriment des mg/litre (ou ppm). Ceux donnés entre parenthèses sont ceux du milieu de culture de base de Zarrouk dans sa thèse (<u>Zarrouk</u>, page 4). Les maxi comportent en général une marge de sécurité :

```
Nitrate* = 440 \ à 6600 \ (1800)
Ammonium* = 0.3 \text{ à } 30
Urée* < 50
Phosphate** = 0.1 \text{ à } 300 (270)
Potassium > 10 (665) et rapport pondéral K/Na < 5
Magnésium*** = 1 à 30 (19)
Sulfate** > 30 (675)
Fer > 0.4(2)
Calcium**** > 0,6 (14)
Bore = (0,5)
Manganèse = (0.5)
Zinc < 1 (0.05)
Cuivre < 0,001 ? (0,02)
Molybdène = (0,01)
Chrome = (0,01)
Nickel = (0,01)
Cobalt = (0,01)
```

#### Notes:

\* a) La mesure de la concentration en « ammonium » par colorimétrie avec le réactif de Nessler donne en réalité la somme ion ammonium NH4 + ammoniac libre NH3. Il est convenu qu'ammonium exprime ici la somme des deux.

Les doses minimum ne s'appliquent que s'il n'y a pas d'autre source d'azote. Les maxima pour ammonium et urée ne sont pas indépendants puisque l'urée s'hydrolyse en ammonium ; c'est l'ammonium total potentiel qui compte, ou plus précisément l'ammoniac libre. Il y a équilibre entre ammoniaque (NH4OH) et ammoniac (NH3) dans l'eau, l'ammoniaque se dissociant elle-même en ions ammonium (NH4) et hydroxyle (OH) : cet équilibre dépend du pH et de la température. L'odeur d'ammoniac est perceptible dès 20 ppm de NH4 + NH3 à pH 10 et 20 °C. Plus le pH est haut, plus il y a d'ammoniac libre à l'équilibre selon le tableau suivant (à 25°C) qui donne les % en poids :

pH 6 = 0 % de NH3 (100 % de NH4)

pH 8 = 4 %

pH 9 = 25 %

pH 10 = 78 %

pH 10.2 = 92 %

On pense que c'est l'ammoniac libre NH3 qui est toxique plutôt que l'ion ammonium NH4, ce qui expliquerait que des doses d'ammonium + ammoniac très supérieures à 30 ppm puissent ne pas être toxiques à bas pH. La souche ondulée (Paracas) résiste à 75 ppm de NH3 à pH 10,5 à 20 °C, du moins pendant un ou deux jours.

La vitesse d'hydrolyse de l'urée dépend elle-même du pH et de la température. Il nous est arrivé, en pleine saison de production, de mettre par erreur 350 ppm d'urée sans que la culture meure (hydrolyse lente ?, bas pH ?, évaporation rapide de NH3 ?, souche très résistante ?).

D'après le rapport Melissa 2004 (page 195), une concentration en ammonium supérieure à 80 ppm sous éclairage > 3 Klux provoque une forte production d'EPS.

b) Il y a réduction possible du nitrate en ammoniac selon la réaction globale: NO3K + 2CH2O (hydrate de carbone) = NH3 + 2CO2 + KOH

Notons en passant que la réduction du nitrate donne une augmentation de l'alcalinité, quel que soit l'agent réducteur. Cette équation signifie qu'un kilo de sucre risque d'être équivalant à 500 g d'urée en tant que production potentielle d'ammoniac. C'est donc la somme urée plus sucre qu'il faut considérer pour calculer la limite de toxicité, soit la règle pratique: "dose quotidienne d'urée + (dose quotidienne de sucre) / 2 < 50 - 1,7 x (concentration du milieu de culture en ammonium), où doses et concentration sont exprimées en mg/l (en l'absence de sucre ou de nitrates, inutile de tenir compte du sucre dans cette formule).

On a constaté des cas de réduction brusque de nitrates en l'absence de saccharose : l 'agent réducteur serait dans ce cas l'exopolysaccharide. Ceci conduit à se méfier des teneurs en nitrates supérieures à 200 ppm qui sont pourtant très fréquentes.

- \*\* D'après la thèse de J.F.Cornet: 0,7 ppm de phosphore et 3 ppm de soufre suffisent. Il est probable que 0,05 ppm de phosphore soit encore suffisant (cas de l'eau de mer). Mais il n'est pas recommandé de travailler à moins de 5 mg de PO4/litre, et, pour permettre une bonne productivité, il faut assurer plus de 20 mg/litre.
- \*\*\* Le phosphate mixte de magnésium et d'ammonium et le phosphate de magnésium, très peu solubles, forment facilement des cristaux dans le milieu de culture si leur produit de solubilité est dépassé. Il y a une relation entre le phosphate, le magnésium et l'ammonium,.
- \*\*\*\* A pH élevé (> 10,5) la solubilité du calcium diminue par précipitation de calcaire.

Les limites sont souvent soit inconnues ou mal définies. Par exemple le cuivre à la dose utilisée par Zarrouk devrait être toxique. Il se peut que les limites dépendent des conditions de culture.

## A.19) Composition élémentaire de la spiruline :

Carbone = 468 g/kg Oxygene = 279 g/kg Azote = 124 g/kgHydrogene = 95 g/kg Potassium = 6.4 - 16 g/kg Phosphore =  $6.7 - 10^*$  g/kg Soufre = 6 - 11 g/kgChlore = 4.2 g/kg Magnésium = 2 - 3.5 g/kg Sodium = 2 - 6 g/kg Calcium =  $1 - 7^{**}$  g/kg Fer = 600 - 1800 mg/kg (= ppm)Bore = 80 mg/kg (= ppm) Manganèse = 25 - 37 mg/kg (= ppm) Zinc = 40 \*\*\* mg/kg (= ppm)Cuivre = 8 - 10 mg/kg (= ppm) Molybdène = 7 mg/kg (= ppm) Nickel = 3 mg/kg (= ppm) Chrome = 2.8 mg/kg (= ppm) Vanadium = 2 mg/kg (= ppm)Cobalt = 1.5 mg/kg (= ppm) Selenium = 0.3 mg/kg (= ppm) (les valeurs en caractères gras ont été retenues pour établir les calculs de nourriture MEDFEED)

La composition en produits nutritionnels est donnée en <u>Annexe 20</u>. On notera certaines différences importantes avec le tableau ci-dessus, notamment sur le calcium, le sodium et le fer; la composition de la spiruline est sujette à variations en fonction des conditions de culture. Ainsi <u>Cornet</u>, (page 125) indique pour la spiruline produite à faible flux lumineux (5 à 20 W/m²), en g/kg:

Carbone = 505 g/kg Oxygène = 310 g/kg Azote = 100 g/kg Hydrogène = 67 g/kg

# A20) COMPOSITION APPROXIMATIVE DE LA SPIRULINE EN ELEMENTS NUTRITIONNELS

Protéines = 65 % en poids (norme : >50) Glucides = 15 % en poids Minéraux = 7 % en poids (cendres totales : <10) Lipides = 6 % en poids Fibres = 2 % en poids Eau = 5 % en poids (norme : <10)

<sup>\*</sup> ou 12 quand la spiruline est produite dans des conditions où peu d'EPS se forme (d'après Thèse de J.F.Cornet, page 166).

<sup>\*\*</sup> très variable: un ouvrage récent donne une teneur en calcium de 7 g/kg (<u>Vonshak (1997)</u>, page 149) et il est possible d'atteindre 14g/kg.

<sup>\*\*\*</sup> peut être augmenté jusqu'à 1g/kg si souhaité.

Contenu énergétique = 5000 calories ou 20,9 kJ/ gramme sec.

# D'après notices Flamant Vert :

#### **VITAMINES**

Béta-carotène = 1400 mg/kg = 2330 Unités Internationales (U.I.)

E (Tocophérol) = 100 mg/kg

B1 (Thiamine) = 35 mg/kg

B2 (Riboflavine) = 40 mg/kg

B3 ou PP (Niacine) = 140 mg/kg

B5 (Acide pantothénique) = 1 mg/kg

B8 ou H (Biotine) = 0,05 mg/kg

B12 (Cobalamine) = 3,2 mg/kg (cette B12 ne serait pas totalement assimilable par

l'organisme : voir note ci-dessous B12)

Inositol = 640 mg/kg

K (Phylloquinone) = 20 mg/kg

#### **ACIDES AMINES**

Alanine = 47 g/kg

Arginine = 43 g/kg

Acide aspartique = 61 g/kg

Cystine = 6 g/kg

Acide glutamique = 91 g/kg

Glycine = 32 g/kg

Histidine = 10 g/kg

Isoleucine = 35 g/kg

Leucine = 54 g/kg

Lysine = 29 g/kg

Méthionine = 14 g/kg

Phénylalanine = 28 g/kg

Proline = 27 g/kg

Sérine =32 g/kg

Thréonine = 32 g/kg

Tryptophane = 9 g/kg

Tyrosine = 30 g/kg

Valine = 40 g/kg

#### **PIGMENTS**

Phycocyanine = 150 g/kg

Chlorophylle a = 11 g/kg

Caroténoïdes = 3,7 g/kg

(dont béta-carotène = 1,4 g/kg)

#### **ACIDES GRAS ESSENTIELS**

Acide linoléique = 8 g/kg

Acide gamma-linolénique (AGL ou GLA) = 10 g/kg

Il ne doit pas y avoir d'acide alpha-linolénique (ALA) : s'il y en a c'est que la spiruline est contaminée par une autre cyanobactérie.

#### **ENZYME**

Superoxyde-dismutase = 1,5 millions d'unités / kg

#### **MINERAUX**

Chrome = 3 mg/kg
Calcium = 10000 mg/kg
Cuivre = 12 mg/kg
Fer = 1500 mg/kg
Magnésium = 3000 mg/kg
Manganèse = 30 mg/kg
Phosphore = 8000 mg/kg
Potassium = 14000 mg/kg
Sodium = 4000 mg/kg
Zinc = 30 mg/kg

#### N.B. concernant la vitamine B12

Il circule actuellement (en 2006) dans certains milieux végétariens/végétaliens une virulente aversion contre la spiruline, accusée d'empêcher l'assimilation de la vraie vitamine B12. Voici par exemple un texte relevé sur Internet à ce sujet : "Les produits fermentés à base de soja, tels que miso, tempeh, shiitake (champignons secs), algue comme la spiruline, nori ne contiennent pratiquement aucune vitamine  $B_{12}$ . Bien que ces aliments soient souvent vendus dans les magasins de santé comme étant "d'excellentes sources de vitamine  $B_{12}$ " et qu'il soient consommés par la communauté macrobiotique, ils ne contiennent en réalité que très peu, au cas où ils en auraient, de  $B_{12}$  active (cobalamine). Au contraire, ils contiennent un élément analogue à la  $B_{12}$  qui n'est pas actif et qui risque en fait de bloquer l'absorption de la véritable vitamine  $B_{12}$ ."

**Jacques Falquet** résume très bien l'état actuel des connaissance sur ce sujet important ainsi :

- Une proportion variable (mais forte) de la vitamine B12 présente dans la spiruline est en fait un (ou des) analogue dépourvu d'activité B12 chez l'humain
- Cette proportion varie selon la spiruline analysée ; celle de Hawaï contiendrait 36 % de B12 active
- Les analogues de B12 existent dans de nombreux produits alimentaires et sont naturellement détectables dans la plasma humain
- La vitamine B12 présente dans les comprimés multi-vitamines peut se convertir spontanément en analogues non-assimilables
- La dangerosité réelle des différents analogues de B12 est actuellement inconnue (aucune étude clinique sérieuse)
- La littérature scientifique ne rapporte aucun cas de troubles liés à aux analogues de B12 de la spiruline (plus de 30 ans de consommation de spiruline dans les pays industriallisés)
- La population du Kanem (ou la spiruline est consommée traditionnellement) ne semble pas affectée de troubles particuliers (or l'anémie pernicieuse est mortelle et ses symptômes sont "spectaculaires").

#### **A21) ELEMENTS DE PRIX DE REVIENT**

(Prix en France TVA 20,6 % incluse et au détail sauf indication contraire)

(Ces prix sont exprimés en U.S. \$ sur la base de 1 Euro/U.S \$ et correspondent à 1999, mais ils restent en gros valables en 2006 )

(Les indications de fournisseurs n'ont aucun caractère d'exclusivité ni de publicité)

#### SOMMAIRE

Films Géotextiles Couverture des bassins

<u>Vis</u> <u>Tôles</u> <u>Bois</u> <u>Piquets</u> <u>Tubes</u>

<u>Parpaings</u> <u>Sable</u> <u>Ombrages</u> <u>Isolants</u>

Filtres Pompes Pressoirs

Robinets Compteurs Compresseurs

Programmateurs Photovoltaïque

Motoréducteurs Extrudeuses Séchoirs

Broyeurs Emballages

Produits chimiques Laboratoire Analyses

Ensembles Spiruline Frêt

Argile pure (densité 2,2 kg/l) = 0,5 \$/kg

#### Films

- Polyéthylène noir, épaisseur 0,15 mm, largeur 3 m = 0,35 \$/m² (Areguipa)
- Polyéthylène noir, épaisseur 0,15 mm, largeur 8 m = 0,3  $m^2$  par lot de 300 m² ou 1,17  $m^2$  au détail
- Polyéthylène noir, épaisseur 0,3 mm, largeur 6,5 m = 0,98 \$/m² par lot de 400 m²
- EVA noir piscicole, épaisseur 0,5 mm, largeur 4, 6 ou 10 m, garanti 15 ans = 5,08 \$/m² au détail
- PVC vert alimentaire, épaisseur 0,5 mm, largeur 4 ou 6 m, garanti 10 ans =  $6,77 \text{ } \text{/m}^2$  au détail
- PVC noir, épaisseur 0,5 mm, non alimentaire, largeur 2,05 m = 1,8 \$/m² par lot important
- PVC noir, épaisseur 1,2 mm, alimentaire et soudable facilement = 6,67 \$/m² en lot important
- PVC gris, épais. 1,2 mm, 1150 g/m², posé par entreprise = 4,5 \$/m² (Espagne)
- Géomembrane en PP souple qualité eau potable), épaiss. 1,5 mm, posée par entreprise = 20 \$/m²
- EPDM noir, épais. 1,14 mm, 1161g/m<sup>2</sup>, en rouleau de 6,1 à 12,2 m de large = 6 \$/m<sup>2</sup>
- Polyéthylène de serre (au Cd), épaisseur 0,2 mm, largeur 6,5 m =  $2 \text{ } / \text{m}^2$  au détail ou 0,8  $\text{ } / \text{m}^2$  par rouleau de 390 m² (78 kg)
- Polyéthylène de serre (au Cd), épaisseur 0,25 mm, largeur 4 m = 0,6 \$/m² au détail (Pérou)
- Polyéthylène de serre (incolore), 200  $\mu$ , largeur 8 m, en rouleau de 3500 m² (713 kg) ou en rouleau de 400 m², largeur 6,5 m = ) = 0,75 \$/m²
- Toile cirée (qualité épaisse) = 8 \$/m² au détail

Fournisseurs de films et bâches : Celloplast, Route du Préaux, F53340-Ballée, Tél 43984602 ou revendeurs (Mr Bricolage, Coopératives agricoles)

Fournisseur de bâches EPDM : Giscosa, Diagonal, 611-10A planta, 08028 Barcelona (en France Véronique Bellity, 06.68.54.15.55)

#### Géotextiles

- Bidim, 200 g/m<sup>2</sup>, 4 m de large = 1,68 \$/m<sup>2</sup> au détail

Fournisseurs : Matériaux pour le batiment

#### Couverture des bassins

- Fibre de verre-polyester, ondulée, largeur 0,9 m, longueur 2 m =  $15.7 \ \text{m}^2$  ou  $11.3 \ \text{m}^2$  (Arequipa)
- verre à vitre 3 mm = 20\$/m<sup>2</sup>
- Tôle ondulée galvanisée, largeur 0,9 m, longueur 2,5 m = 9,3 \$/m<sup>2</sup>
- Toiture traditionnelle africaine en chaume sur piquets et charpente bois traité = 8 \$/m² couvert (Koudougou, Burkina Faso)
- Serres "chapelle" accolées, couvertes en film de polyéthylène anti-UV (tout installées, ordinateur et ombrage compris) = 16 à 23 \$/m² utile couvert

Fournisseurs (serres) : Richel-Serres de France, Quartier de la Gare, F13810-Eygalières, www.richel.fr

#### **Tôles**

- Fibre de verre-polyester translucide plane, largeur 1 m = 12,3 \$/m<sup>2</sup>
- Tôle galvanisée plane, épaisseur 0,5 mm, 1x2 m = 3,3 \$/m<sup>2</sup>

# Bois (sapin brut non traité)

- Planches en bois brut, épaisseur 27 mm, longueur 2,5 m = 5,8 \$/m<sup>2</sup>
- Planches rabotées, épais. 14 mm, largeur 80 mm, long 2 m (en bois d'ayou) = 50 \$/m² (Mr Bricolage)
- Liteaux en bois brut,  $27 \times 27 \text{ mm}$ , long. 2 m = 0.3 /m
- Liteaux en bois brut,  $3 \times 4$  cm, long. 2 m = 0.5 /m
- Liteaux en bois brut, 8mm x 27 mm, long 2,5 m = 0,27 \$/m (Mr Bricolage)
- Chevrons en bois brut, 6 x 8 cm, longueur 5 m = 1,4 \$/m
- Carrelet rabotés, 14 mm x 14 mm, long 2 m = 0.83 \$/m (Mr Bricolage)

#### **Piquets**

- acier (en té) peints, long. 1 m. = 2,5 \$/pièce

#### **Tubes**

- acier galvanisé 50 mm, en longueurs de 6 m = 3,5 \$/m

#### Vis galvanisées

- -4x40 mm = 10 \$/200 pièces
- $-4 \times 30 \text{ mm (tirefond)} = 0.05 \text{ pièce}$
- $-5 \times 30 \text{ mm} = 5 \$/100 \text{ pièces}$
- 8x60 mm (tirefond) =0,17 \$ pièce
- 8x100 mm (tirefond) = 0,23 \$ pièce
- 8x120 mm (tirefond) = 0,30 \$ pièce
- 8x140 mm (tirefond) = 0,55 \$ pièce

Parpaings ("blocs-ciment" en Belgique) de 50 x 20 x 20 cm (livrés sur chantier) = 1 \$/pièce

**Sable** (livré sur chantier) = 43 \$/mètre cube

#### Filets d'ombrage

- Canisse, largeur 2 m = 3,5 \$/m<sup>2</sup>; 1 \$/m<sup>2</sup> (Bangui, RCA) ; 1,2 \$/m<sup>2</sup> (Cotonou)
- Ombrière ("Malla Rashel" = plastique tissé), noire, 80 %, largeur 4 m = 1,1 \$/m² (Chili)
- Ombrière (plastique tissé), noire, 66 %, 50 m x 2,8 m = 1,45 \$/m<sup>2</sup>

Fournisseurs : Celloplast, Route du Préaux, F53340-Ballée, Tél 43984602 ou revendeurs (Mr Bricolage, Coopératives agricoles)

**Lampes horticoles** (système complet avec ballast et réflecteur, ampoule Philips Son-T Agro garantie 10.000 heures, 13 W/klux/m²)

400 Watt = 300 \$

#### **Isolants**

- flexible multicouche épaisseur 20 mm (équivalent à 200 mm de laine de roche), en rouleau de 1,58 m x 10 m = 15 \$/m<sup>2</sup>
- rigide polystyrène extrudé en plaque de 4 cm d'épaisseur = 9 \$/m²

#### Supports de toiles de filtre

- -"Grille" Polyéthylène maille 5 mm NORTENE, largeur 1 m = 4,7 \$/m² au détail
- Moustiquaire fibre de verre, largeur 0,6 ou 1 m = 6 \$/m² au détail
- Moustiquaire nylon, largeur 1 m = 1,35 \$/m² (Arequipa, Pérou)
- Filet nylon maille 10 mm = 3 \$/m<sup>2</sup>

#### **Filtres**

- Toile de filtration Polyester monofilament, 30 microns, largeur 1,42 m. = 51,3 \$/m²
- Toile de tamisage Polyester monofilament, 315 microns, largeur 1,58 m = 14,3 \$/m²
- Toile de filtration Polyester (Tergal), tissu ordinaire pour doublure = 1,7 à 3,3 \$/m²
- Cadre de sérigraphie, toile polyester monofilament 25 microns = 165  $m^2$  Fournisseur de toiles de filtration (30  $\mu$ ) :

Nom du fournisseur : SEFAR FYLTIS

Adresse: BP 3175 Lyon Cedex 03, France

tel 33 4 72 13 14 15

fax 33 4 04 72 13 14 00

Compte chèque postal : N° 7878 45 Y, Centre Lille

*Référence de la toile 30 μ :* 

Référence article : 72556AC

Désignation : Largeur 1420 mm, longueur 4 mètres, 07-30/21/PETEX

Prix (le 21/01/2000) : 362 FF le mètre, plus 20,6 % de TVA (sauf pour l'export) +

environ 4 % pour (assurance + transport + emballage).

### **Aspirateurs**

- Aspirateur professionnel, 300 m. cube/h, 20 kPa, 1200 W = 1000 \$
- Aspirateur ménager = 300 \$

#### **Pompes**

- Pompe d'aquarium, 1000 l/h, 14 W, 220 V = 31 \$
   (Le prix peut descendre à 24 \$ pour des quantités importantes)
   (On trouve en Turquie des pompes valables à un prix très inférieur)
- Pompe d'aquarium, 1200 l/h, 32 W, 220 V = 37 \$
- Pompe vide-cave, à vortex, 16000 l/h,1 kW, 220 V = 182 \$
- Pompe vide-cave, à vortex, 5000 à 12000 l/h, 300 à 400 W, 220 V = 100 \$
- Pompe vide-cave ordinaire, 5000 l/h, 200 à 300 W, 220 V = 60 \$
- -Transformateur de sécurité pour pompes d'aquarium (à écran d'isolement relié à la terre), 500 W = 100 \$

Fournisseurs (pompes d'aquarium Maxi-Jet) : Aquarium Systems 43 rue Gambetta, F57400-Sarrebourg, Tél 0387031098 ou magasins d'aquariophilie

#### **Pressoirs**

- Inox à vis supérieure, à jus de fruit, 4 litres = 190 \$

Fournisseur : Etablissements J. Perraud, 7 route Nationale, F42470- Saint-Symphorien-de-Lay, Tel 0477647879

#### **Robinets**

- tout plastique, diamètre 25 mm = 30 \$

## Compteurs d'eau

- tout plastique, diamètre 38 mm = 350 \$

#### Compresseurs d'air

- Type aquarium : 300 l/h, 6 Watt = 27 \$
- Type aguarium : 150 l/h = 12 \$
- Sans huile: 8 bars, 12000 l/h, 1100 Watt, réservoir 6 litres = 215 \$
- Tuyau pour air comprimé 8 bars sur enrouleur, 20 m = 48 \$
- Tuyau pour air comprimé 8 bars en ressort, 5 m = 20 \$
- Tuyau PVC 4 mm pour aquarium = 0,53 \$/m
- Distributeur à 3 robinets pour aquarium = 4,7 \$

#### **Programmateurs**

- En 220 V alternatif = 20 à 28 \$ (France et Chili)
- En 12 V continu = 120 \$

#### Photovoltaïque

- Panneau Si monocristallin, 12 V, 22 W = 270 \$
- ( + Régulateur/chargeur de batterie = 100 \$)
- 12 V, 15 AH, étanche = 50 \$
- Convertisseurs de courant électrique de 12 V continu en 220 V puissance 40 W = 120 \$ puissance 100 W = 230 \$

#### **Motoréducteurs**

- 180 W, 220 V = 251 \$
- 30 t/mn, 100 W, 220 V = 240 \$
- 20 t/mn, 80 W, 220 V = 208 \$
- 20,8 t/mn, 10 W restitués, 220 V, moteur asynchrone (Réf Crouzet 80667-009-INV) = 230 \$

#### **Extrudeuses** (Pistolets à extruder pour silicone en poches)

- manuel, capacité 300 ml, modèle SIKA = 37 \$ (47 \$ au Chili)
- manuel, capacité 300 ml, importé de Chine (de bonne qualité) = 3 \$
- manuel, capacité 600 ml, modèle SIKA MK5C = 49 \$
- à air comprimé, 600 ml, modèle SIKA DKR600 = 267 \$
- poussoir (pour faire les saucisses), inox, 10 litres, manuel = 500 \$
- gaine PE alimentaire 60µ, diamètre 50 mm = 24 \$/km

Fournisseurs (Pistolets Sika): Sika, 101 rue de Tolbiac, F75654-Paris cedex13, Tel 0153797900 ou revendeurs (produits pour le batiment)

#### **Séchoirs**

- Séchoir électrique, puissance 600 Watt, modèle Stöckli avec 3 plateaux = 67 \$ (Suisse); le plateau supplémentaire = 1,7 \$

Fournisseurs: A. & J. Stoeckli, CH-8754- Netstal GL ou revendeurs (en Suisse)

#### **Broveurs**

- broyeur manuel (Corona) = 20 \$ (Chili)

#### **Emballages**

- Sacs plastique métallisés thermoscellables à maintien vertical ou non, capacité 800 g de spiruline broyée = 0,41 \$ pièce par 5000 unités ou 0,34 \$ pièce par 10.000 unités ; capacité 100 g = 0,078 \$ pièce par 10.000 unités (non imprimés) ou 0,113 \$ imprimés.
- soude-sacs électrique pour sacs plastique aluminisés = 333 \$

Fournisseur: Bernhardt, BP 69, F62201-Boulogne/Mer, Tel 0321315091

# **Produits chimiques**

- Acide chlorhydrique 33% = 1,17 \$/litre
- Acide citrique en sac de 25 kg = 1,9 \$/kg (Costa Rica)
- Acide phosphorique 78% en jerrican (24 % de P) = 0,6 \$/kg (Espagne)
- Acide phosphorique 85 % en bidon de 25 kg (27 % P) = 1 \$/kg (Costa Rica)
- Bicarbonate de sodium zootechnique en sac de 25 kg = 0,35 \$/kg
- Bicarbonate de sodium naturel U.S.A. à 99,8 % de pureté,

en sac de 25 kg = 0.4\$/kg (Costa Rica)

- Bicarbonate de sodium alimentaire par 500 g = 2,7 \$/kg
- Butane liquide = 1,3 \$/kg en bouteilles de 13 kg consignées; 0,69 \$/kg (Chili); 0,713 \$/kg (Cotonou) + consigne
- Carbonate de sodium technique léger = 1 \$/kg
- Chlorure de sodium brut broyé en sac de 50 kg = 0,22 \$/kg;

0,083 \$/kg (Arequipa), 0,117 (Espagne)

- Chlorure de sodium alimentaire (sel fin) en sac de 50 kg = 0,27 \$/kg
- Chlorure de sodium alimentaire (sel fin) en sac de 10 kg = 0,38 \$/kg
- EDTA sel disodique, 2H2O, par 1 kg = 50 \$/kg
- Ferfol (Fer chélaté à l'EDTA à 13 % de fer), par 1 kg = 25 \$/kg
- Gaz carbonique liquide en bouteille de 30 kg =

0,863 \$/kg (Iquique, Chili) bouteille comprise,

ou 0,63 \$/kg (Arequipa, Pérou) + bouteille (2 \$/mois + caution 233 \$)

- Gaz carbonique liquide en bouteille de 22 kg =

3 \$/kg (Alès, France) + bouteille (8,8 \$/mois + caution 200 \$)

- Gaz carbonique liquide en bouteille de 25 kg (Chili) =

1,25 \$/kg + bouteille (5,8 \$/mois) [Détendeur = 12 \$]

- Gaz carbonique liquide en vrac, location du stockage compris, hors vaporisateur (coût 4500 \$), pour 6 tonnes/an

$$= 0.5$$
\$/kg

- Nitrate de potasse cristallisé, engrais, en sac de 50 kg = 0,68 \$/kg
- Nitrate de soude du Chili, engrais à 16 % d'azote, en sac de 50 kg = 0,53 \$/kg
- Oligoéléments en solution concentrée (formule J. Falguet) = 0,033 \$/kg de spiruline
- Propane liquide vrac = 0,5 \$/kg
- Phosphate monoammonique cristallisé, engrais, en sac de 25 kg

$$= 1.05$$
\$/kg

- Phosphate dipotassique technique en sac de 25 kg = 3.58 \$/kg
- Séquestrène 100 SG (Fer chélaté à l'EDDHA à 6 % de fer), par 1 kg = 42.5 \$/kg
- Soude anhydre en boite de 1,3 kg = 3,33 \$/kg, en sac de 25 kg = 1,63 \$/kg
- Sucre blanc en sac de 1 kg = 1 \$/kg (1,17 à Bangui)
- Sucre roux cristallisé en sac de 50 kg = 0,35 \$/kg (Arequipa)
- Sulfate dipotassique cristallisé en sac de 25 kg = 0,48 \$/kg

ou en sac de 5 kg = 2.3 s/kg

- Sulfate de magnésium cristallisé, engrais, en sac de 25 kg = 0,32 \$/kg
- Sulfate de fer pour analyses (FeSO4, 7H2O), flacon de 1 kg = 35 \$/kg
- Sulfate de zinc (ZnSO4, 7H2O) pour analyses, flacon de 1kg = 25 \$/kg
- Urée = urée en perles, agricole, en sac de 50 kg = 0,25 \$/kg;

0.28 \$/kg (Espagne), 0.27 \$/kg (Areguipa)

#### Matériel de laboratoire

- Anémomètre (mesure de la vitesse du vent) de 0,2 à 30 m/s (chez Conrad en janvier 2006)
- = 30 euros
- Bassine en PE alimentaire blanc, 35 litres = 28 \$
- Balance électronique 5 kg = 50 \$
- Balance électronique 100 g (à 0,1 g) = 167 \$
  - Balance électronique 250 g (à 0,05 g) Voltcraft (chez Conrad janvier 2006) = 60 euros
  - Poids de calibration 100 g = 13 euros
- Détecteur de CO (chez Conrad en janvier 2006) = 40 euros
- Microscope monoculaire = 142 à 333 \$
- Microscope portable (x 100) = 50 \$
- Densimètre = 17 à 29 \$
- Thermomètre à alcool = 3 à 17 \$
- Thermomètre à Infra-Rouge (mesure sans contact) = 50 \$
- Thermomètre-humidimètre électronique = 25 à 98 \$
- pHmètre professionnel = 400 à 580 \$ (dont électrode 60 à 100 \$)
- ph-mètre-thermomètre = 277 \$
- ph-mètre "Piccolo" = 154 \$
- pHmètre simplifié (type "stylo") = 58 \$
- Etalons de pH 4 -7-10 (60 ampoules) = 100 \$
- Etalons de pH 4 7 10 (15 gélules ou "pillows") = 22 \$
- Aquamerck ammonium 0,5 10 ppm (150 dosages) = 64 \$
- Bandelettes Merckoquant nitrates (100 dosages) = 50 \$
- Bandelettes Merckoquant sulfates (100 dosages) = 37 \$
- Bandelettes Merckoquant calcium + magnésium (100 dosages) = 37 \$
- Bandelettes Merckoquant calcium 10 100 ppm (60 dosages) = 69 \$
- Analyseur de CO2 dans l'air, I.R. = 400 \$
- Luxmètre digital 50 Klux = 50 \$
- Oxymètre digital (Conrad 2007) = 216 \$

#### Analyses, \$/unité

- % protéines = 15
- % humidité = 7.8
- % cendres brutes = 6,7
- % GLA = 97
- Phosphore total = 18,3
- Nitrates = 24.7
- Fer = 26.2
- Autres métaux = 20 (moyenne)
- Béta-carotène = 100
- Microbiologie = 64

#### **Ensembles**

- Bassin de culture sous serre tunnel avec roue à aube (1000 m²) = 25 \$/m²
- Serre en film PE sur armature acier (1000 m²)

type tunnel =  $7 \text{ }^2$ 

type multichapelle aérable et ombrée = 19 \$/m² (en 2000)

- Ferme <u>complète</u> avec bassins sous serres, séchoirs à claies, terrain, etc... = 250 \$/m² (en 2002)

# Spiruline sèche (Prix de vente)

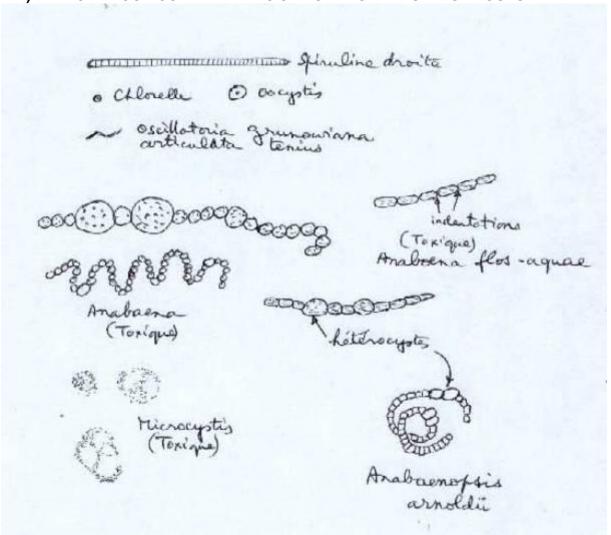
- Le prix de vente de la spiruline sèche est extrêmement variable selon les lieux, les quantités, la qualité, l'emballage, la conjoncture, etc. En 1999 le prix international par tonne

est tombé autour de 10 \$/kg sous la pression chinoise. Au détail on trouve de la spiruline en poudre autour de 80 \$/kg, tandis qu'en gélules elle se vend en pharmacie autour de 300 \$/kg.

#### Frêt

- par avion, de Madagascar en France = 3,33 \$/kg

### A22) PLANCHE POUR COMPARER LES SPIRULINES A D'AUTRES ALGUES :



### **A23) SPIRULINE VUE AU MICROSCOPE**



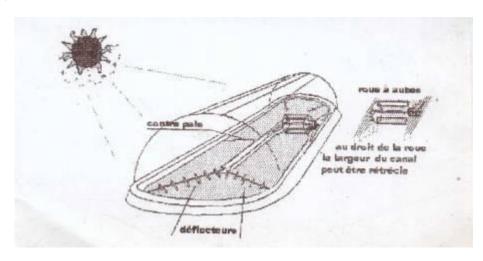
Le poids sec d'un filament moyen de spiruline est d'environ 3µg.

Le sens d'enroulement des spires des spirulines spiralées est le plus souvent le sens inverse des aiguilles d'une montre si on regarde par dessus la spirale en descendant, mais pas

toujours. Cela dépend des souches mais non de l'hémisphère Nord ou Sud. Et à l'intérieur d'une même souche (Lonar par exemple) on peut trouver des trichomes spiralés dans les deux sens se cotoyant.

### A24) POUR CEUX QUI ONT DE L'ELECTRICITE:

### **A24.1) AGITATION PAR ROUE A AUBES**



Les bassins agités par roue à aubes sont plus longs que larges, avec extrêmités arrondies et une cloison centrale et de préférence des déflecteurs aux changements de direction dans les angles. La roue à aube est installée sur un des côtés ou à une extrémité, entre bord et cloison centrale. L'axe de rotation repose sur deux roulements à billes fixés sur des supports solides, généralement bétonnés. Au droit de la roue la largeur du canal peut être rétrécie sans inconvénient; au contraire cela permet de renforcer les supports et de raccourcir la roue donc de la rendre plus solide.

La roue comprend par exemple 4 ou 6 pales ou ailettes solidement maintenues sur des disgues solidaires de l'axe et de diamètre voisin de 80 cm. La hauteur des pales est de l'ordre de 20 cm. Pour minimiser les dégâts causés aux spirulines, il est bon d'arrondir le bord d'attaque des pales. La construction de la roue à aubes doit se faire de préférence en plastique (PVC rigide d'épaisseur 4 mmm ou plus) ou en bois car presque tous les métaux sont corrodés à la longue. Le contreplaqué de qualité résistant à l'eau bouillante convient et il est pratique. L'acier galvanisé et certains inox (304) résistent en général. L'axe est généralement métallique, mais il faut prévoir son remplacement ainsi que celui des roulements à billes qui le supportent et qui risquent fort d'être corrodés. Un moto-réducteur électrique entraîne l'axe à une vitesse de 20 tours par minute environ. Sa puissance utile doit être de l'ordre de 1 Watt/m² de bassin ou plus ; sous serre, prévoir une arrivée d'air extérieur sur le ventilateur du moteur. Un variateur de vitesse est commode mais onéreux. Une transmission par courroie est recommandée. Pour les petits bassins, la roue à aubes peut être montée directement sur l'axe du moto réducteur. Elle peut ne comporter que deux pales, ce qui a pour effet de provoquer une houle artificielle se propageant jusqu'à l'extrémité du bassin et contribuant à l'agitation. Il est utile de protéger le fond du bassin, s'il est en film plastique, au droit des pales: par exemple par des plaques inox ou ciment (on peut couler du ciment sur place). La distance entre le bas des pales et le fond du bassin ou ces plaques doit être faible, mais suffisante pour ne pas risquer de toucher le fond ni d'endommager les spirulines (5 cm paraît correct).

On admet que la vitesse de circulation de la culture doit être de 20 cm/seconde pour obtenir une bonne agitation; théoriquement le régime turbulent est atteint dès que cette vitesse

dépasse 10/z (z = profondeur en cm) si la concentration en spiruline est inférieure à 3 g/l. Pour réduire les irrégularités de débits et l'accumulation des boues en certains endroits, on installe des déflecteurs ou des contre-pales créant des remous :

Il y a un débat concernant le meilleur sens de rotation du liquide dans le bassin : pour certains le meilleur serait le sens contraire aux aiguilles d'une montre. Pour d'autres le sens des aiguilles d'une montre serait tabou. En ce qui nous concerne, nous n'avons aucune recommandation spéciale.

### A24.2) FILTRATION SOUS VIDE

L'utilisation d'un vide modéré (un aspirateur donnant un vide de 15 kPa - soit 1,5 m de colonne d'eau - suffit) permet d'accélérer la vitesse de filtration. On utilise pour cela une toile reposant sur un support rigide (grille), posé sur un réservoir étanche résistant au vide. Ce réservoir est relié à l'aspirateur. La culture à filtrer est pompée dans le bassin à travers une crépine servant de tamis ou envoyée sur la toile de filtration à travers un tamis. Une pompe vide-cave de type "à vortex" est recommandée pour ne pas casser trop de spirulines. Une pompe type vide-cave, à commande automatique par flotteur et munie sur son refoulement d'un clapet de non-retour bien étanche, assure le maintien automatique du niveau de filtrat dans le réservoir sous vide.

Au lieu du couple aspirateur+pompe vide cave on peut utiliser une pompe à vide à anneau liquide (p. ex. pompe Sihi) capable d'aspirer à la fois l'air et l'eau.

En cours de filtration on décolmate au besoin la toile avec une raclette caoutchouc. On arrête l'arrivée de liquide et on attend que la biomasse soit suffisamment pauvre en eau, puis on récupère la biomasse à la raclette.

La vitesse de filtration dépend bien entendu de la qualité de la culture et de la fréquence des décolmatages, mais elle peut se situer autour de 8 kg de spiruline sèche/heure/m² de filtre.

#### A24.3) FILTRATION SOUS PRESSION

La culture pompée à travers un tamis peut être envoyée dans un sac en forme de manche fermé par une pince, flottant dans le bassin. Si le sac est vertical et hors de la culture, de petit diamètre (< 6 cm) et de grande longueur (> un mètre), la filtration peut se faire par gravité avec une bonne efficacité.

### **A24.4) FILTRATION CONTINUE**

Divers dispositifs existent (tamis vibrants, tambours rotatifs), mais sont plus adaptés aux conditions industrielles qu'artisanales.

### **A24.5) ESSORAGE PAR LE VIDE** (pour remplacer le pressage)

Il s'agit d'une variante du § A24.2. Si la biomasse est laissée sur le filtre sous vide suffisamment longtemps (par exemple 10 minutes pour une épaisseur de 5 mm), l'eau interstitielle s'élimine comme dans le cas d'un pressage. Par rapport au pressage, ce système permet le lavage éventuel de la biomasse (opération que nous estimons généralement inutile, voire nuisible selon les cas, voir § 8.2), mais parfois indispensable quand le milieu de culture est trop sale.

On peut aussi n'utiliser le filtre à vide que pour l'essorage; dans ce cas le volume de liquide est suffisamment faible pour qu'on puisse se passer de la pompe vide-cave dans le réservoir.

Un bon essorage peut exiger un vide plus fort que la simple filtration.

### **A24.6) ESSORAGE PAR ESSOREUSE** (pour remplacer le pressage)

L'essorage de la biomasse sortant du filtre peut aussi se faire dans une essoreuse à panier (à axe vertical) munie d'une toile de filtre et tournant à vitesse suffisamment modérée pour ne pas casser la spiruline. Ce système permet aussi le lavage de la biomasse. Nous ne le considérons pas à la portée d'un artisan.

### A25.7) ESSORAGE PAR GAZ COMPRIME (pour remplacer le pressage)

C'est une variante du § A25.5 où le vide est remplacé par une pression de gaz pouvant aller jusqu'à 5 bars sans risquer de casser la spiruline si la biomasse est de qualité correcte.

### **A25) HIVERNAGE**

Dans les zones à hivers froids, les récoltes peuvent se poursuivre tant que la température maximum ne descend pas en dessous de 15°C. Ensuite, lorsque la température des bassins est inférieure à 10°C, il arrive que la spiruline décante au fond et jaunisse. Il faut éviter d'aborder l'hiver à pH < 10 et de trop agiter à la pompe pendant l'hiver pour éviter le risque de "blanchiment" du milieu et la mort des spirulines.

Si l'hiver est assez doux (> - 8°C) et si le milieu n'est pas carencé, la spiruline peut très bien survivre sous serre et redémarrer aux beaux jours, mais il est prudent d'ombrer tant que la température du bassin reste inférieure à 10 - 15°C. En cours d'hiver il est bon d'agiter de temps à autre au balai pour remettre en suspension et aérer les boues du fond. En fin d'hiver, si tout se passe bien, le milieu de culture se trouve rénové (turbidité très faible, peu ou pas de boues, pH = 10, récoltabilité excellente). Cependant il y a le danger théorique que pendant l'hiver des contaminations puissent se produire (algues étrangères et éventuellement toxiques) : faire un test de toxicité avant de recommencer à récolter.

Dans les zones à forte saison des pluies il faut couvrir les bassins. Si ce n'est pas possible, on peut continuer les récoltes en purgeant le milieu de culture, et en rajoutant les sels correspondants, mais cela coûte cher en sels tandis que la récolte risque de ne pas pouvoir se sécher. On peut donc préférer arrêter la production, puis vider et nettoyer à fond les bassins et redémarrer la culture au retour du beau temps.

Il faut toujours conserver une ou plusieurs réserves de semence de bonne qualité, mais a fortiori en cas d'arrêt annuel. La réserve doit être conservée dans un endroit abrité des intempéries, à l'ombre (pas à l'obscurité pendant le jour), à température modérée (20 à 30 °C) et agitée de temps en temps. Elle ne doit être ni trop concentrée ni trop diluée en spiruline (Secchi = 2 à 4 convient). Il faut "repiquer" la culture de réserve, c'est-à-dire démarrer une autre réserve, ensemencée à partir de la première tous les deux à trois mois pour maintenir sa qualité. Nota: une culture, même de réserve, ne doit jamais être fermée de manière étanche: elle a besoin d'air, et un bon moyen de l'apporter est d'agiter par bullage d'air.

En cas d'arrêt prolongé des récoltes sur un bassin en production, il faut l'ombrer en permanence et l'agiter au moins de temps en temps.

### A26) FORMULES D'OLIGO-ELEMENTS

### A26-1) Formule de Jacques Falquet, 1997 (Antenna Technologie, Genève) :

(Solution concentrée pour faciliter le transport)

Acide citrique = 100 g / litre \*Borax = 75 g / litre MnNO3,4 H2O = 45,6 g / litre ZnSO4,7H2O = 35 g / litre CuNO3,3H2O = 9,2 g / litre \*KCr(SO4)2,12 H2O (alum de chrome) = 5,4 g / litre \*MoNa2O4,2H2O (Molybdate de sodium) = 3,5 g / litre \*Co(NO3)2,6H2O = 0,2 g / litre \*Ni(NO3)2,6H2O = 2,9 g / litre \*NH4VO3 (monovanadate d'ammonium) = 0,94 g / litre \*Na2Se2O3,H2O (sélénite de sodium) = 0,2 g / litre Eau distillée = qsp 1 litre

A noter qu'en vieillissant cette solution dégage une odeur nauséabonde de gaz sulfuré (composé du sélénium volatil et toxique).

\*Ces éléments peuvent être omis au besoin.

Dose à utiliser : 5 ml contiennent les oligo-éléments d'un kg de spiruline récolté.

# A26-2) Formule simplifiée de J.P. Jourdan (sans sélénium, mais avec supplément de zinc)

ZnSO4,7H2O = 20 g / litre Sel disodique d'EDTA,2H2O = 7 g / litre (peut être remplacé par 10 g d'acide citrique/l) MnCl2,4H2O = 2 g / litre CuSO4,5H2O = 0,5 g / litre Eau déminéralisée ou de faible dureté = qsp 1 litre

Dose moyenne à utiliser = 25 à 100 ml/kg récolté, selon les autres apports d'oligoéléments; si on ne connaît pas ces autres apports, essayer 50 ml/kg et chercher la meilleure dose par tâtonnements. La dose de 100 ml/kg apporte 500 mg de zinc/kg, ce qui est considéré comme souhaitable du point de vue nutritionnel par bon nombre de nutritionnistes.

A la dose de 50 ml/kg le coût de cette formule est négligeable: < 0,03 \$/kg de spiruline.

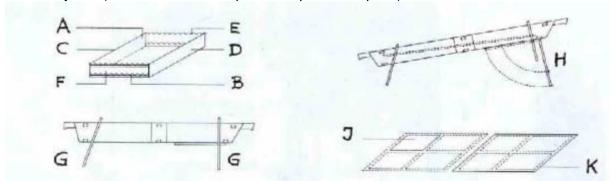
#### Remarque

La composition de la spiruline peut être modifiée dans de larges proportions concernant le fer et les oligoéléments selon ce que les spécialistes préconisent. Certains disent par exemple qu'il y a trop de vitamine B12 dans la spiruline : l'apport de cobalt a donc été supprimé dans la formule. Par contre la dose de zinc a été renforcée.

### **A27) PLANS DE SECHOIRS**

A27.1) Séchoir solaire modèle "Bangui" (version SS4-I.1996) par Michel-André THELER, CH-1958 Uvrier/Sion (Suisse), Tél. (41) 27 203 28 43

Plan simplifié (Monsieur Theler dispose des plans complets) :



### Description sommaire de l'élément et principe de fonctionnement :

Caisse (dimensions 200 x 90 x 25 cm) constituée de :

- Une tôle ondulée A en polyester translucide (dessus)
- Une tôle ondulée B en aluminium (fond)
- Deux côtés C et D (contre-plaqué)
- Un portillon frontal de chargement E (moustiquaire)
- Une fenêtre F (moustiquaire) à l'extrêmité opposée

Cette caisse repose sur 4 pieds fixes G (à l'état de repos et lors du chargement) ou elle est inclinée afin d'optimiser l'exposition au soleil et l'effet thermosiphon (surélévation de l'arrière par un double pied escamotable H).

**Séchage** par circulation d'air chaud au travers de 8 cadres J en moustiquaire plastique (surface utile totale = 1,2 m²) sur lesquels est disposée la biomasse extrudée à sécher. **Chargement** à l'aide de 2 châssis K (supportant chacun 4 cadres) introduits lorsque le portillon est ouvert et glissant à l'intérieur du caisson en prenant appui sur deux rails latéraux inclinés.

Productivité par bon ensoleillement : environ 300 g de spiruline sèche/jour.

# A27.2) Séchoir solaire à gaz (modèle "Davougon", version 1996) par Pierre ANCEL, F-95120 Ermont, Tél. 01 30 72 03 57

Cet appareil est construit à partir d'un fût en tôle de 200 litres (diamètre environ 50 cm, hauteur environ 80 cm) propre auquel trois pieds support on été soudés ou boulonnés. A 10 cm au dessus du fond des ouvertures colmatables, protégées par des morceaux de moustiquaire collés, sont aménagées pour permettre l'entrée d'air frais et la régulation de température.

A 20 cm au dessus du fond des cornières métalliques sont soudées ou vissées pour servir de support aux plateaux de séchage. Un couvercle amovible en bois ou en métal protège de la pluie et des insectes tout en permettant la sortie de l'air humide.

Les plateaux sont des cadres en bois munis d'une moustiquaire nylon. Ils sont emplilables (nombre maximum = 5)

Un réchaud à gaz butane (ou un brûleur récupéré sur une gazinière, monté sur support métallique soudé) permet de chauffer le fond du séchoir.

Le séchage peut aussi se faire directement par les gaz de combustion, convenablement dilués pour régler leur température (en jouant sur la hauteur des plateaux par rapport au brûleur), mais à deux conditions:

- brûleur de bonne qualité (ne charbonnant pas et donnant une flamme bleue)
- gaz de bonne qualité (le gaz butane courant en France convient)

# A27.3) Séchoir solaire à chauffage indirect, conception Claude VILLARD, 8 rue Stéphen Liégeard, F-83400- Hyères, Fax 04.94.57.03.34, <a href="mailto:spirulinaP@aol.com">spirulinaP@aol.com</a>

Le séchoir est constitué d'un caisson en tôle noire mate portant 5 plateaux amovible (cadre bois + moustiquaire nylon), muni sur un côté de portes permettant le chargement des plateaux. Le caisson est surélevé (pieds ou dénivellée du sol) de manière à pouvoir être alimenté en air chaud par thermosiphon à partir d'un capteur solaire à air à absorbeur en briques cuites, incliné et orienté convenablement selon la latitude du lieu. L'entrée d'air au capteur constitue le point bas du système et elle est protégée par une moustiquaire ; cette entrée doit être placée en un endroit autant que possible à l'abri des poussières et autres polluants, et bien évidemment hors d'eau..

Le caisson est surmonté d'une large cheminée également en tôle noire mate, surmontée d'un chapeau de protection contre la pluie et portant une moustiquaire de protection contre les insectes et feuilles mortes. Cette cheminée assure un tirage suffisant : pour cela sa hauteur doit être proche de celle du caisson.

### A28) PROJET SEMI-ARTISANAL DE 5 KG/JOUR

Il nous parait intéressant de résumer ici un projet de 5 kg de spiruline/jour que nous avons eu l'occasion de préparer à la demande d'une entreprise intéressée; il s'adresse à des groupes disposant d'électricité, d'eau courante et de CO2, et disposés à investir suffisamment pour vendre leur production sur le marché international. En climat chaud l'atelier peut fonctionner toute l'année et produire 1,5 tonnes/an; en climat tempéré, la moitié. Il s'agit encore d'un procédé encore peu mécanisé, utilisant beaucoup de main d'œuvre.

#### A28.1) Bassins

4 bassins de 3 m x 50 m = 150 m², sous 2 serres de 8 m de large, à raison de 2 bassins par serre, avec une allée au centre de la serre entre les deux bassins. Agitation par roue à aubes à 4 ou 6 pales bois actionnée par motoréducteur de 250 W (un par bassin). Puisard de vidange à une extrêmité, vidange par gravité ou par pompe vide-cave à vortex. Serres aérables et ombrables partiellement, munies de moustiquaires aux deux bouts.

En variante la serre peut être remplacée par un habillage de film tendu sur chaque bassin, prenant appui sur un tube galvanisé reposant sur le muret central. Les bords du film sont enterrés. Dans cette variante l'accès au bassin est limité.

### A28.2) Bâtiment

Toutes les manipulations de spiruline se font dans un bâtiment de 70 m² (pouvant servir de logement au personnel) dont le sous-sol est aménagé en salle de récolte. Au rez-de-chaussée se trouve le séchage-broyage-conditionnement du produit sec, ainsi qu'un petit laboratoire et le magasin de matières premières.

Le bâtiment est climatisé, avec ventilation par air filtré. Ceci facilite le port des vêtements de protection en vigueur dans les industries alimentaires.

La moitié du toit est construit pour pouvoir servir de capteur solaire sans vitrage (tôle peinte couleur tuiles) pour alimenter le séchoir solaire éventuel.

Un auvent abrite ventilateurs, séchoir, aspirateur, compresseur, cuve de carbonatation et cuve d'épuration.

### A28.3) Récolte

Le dispositif de récolte est constitué d'une cuve de filtration en ciment, profonde de 60 cm, large de 80 cm et longue de 8 m., aux bords horizontaux garnis d'un joint de caoutchouc, sur lesquels reposent 4 cadres de filtration mobiles. Ces cadres ont des bords de 10 cm de haut et un filet tendu sur le fond. Les toiles de filtration sont simplement posées sur ces cadres. La culture à filtrer vient des bassins par gravité à travers un tamis. Chaque bassin a sa propre tuyauterie d'amenée, munie d'un compteur d'eau permettant de savoir exactement le volume soutiré par bassin. On peut accélérer la filtration en branchant un aspirateur sur la cuve.

Le filtrat est pompé par une pompe vide-cave commandée par flotteur, située dans un regard au point bas de la cuve. La tuyauterie de refoulement, comprenant un clapet anti-retour, traverse le côté de la cuve pour ne pas interférer avec l'étanchéité au vide. Le filtrat est envoyé dans la cuve de carbonatation.

La biomasse égouttée est essorée dans une presse située à proximité de la filtration. Le pressage se fait sur des plateaux à rebords de 2 cm, au fond percé (formant caillebotis). Ces plateaux sont mobiles. La biomasse est enveloppée dans une toile de coton forte doublée à l'intérieur d'une toile nylon fine, formant un "paquet" plat de 5 cm d'épaisseur maximum posé sur un des plateaux, en attendant d'être mise sous presse. Plusieurs plateaux peuvent être empilés pour pressage simultané. La presse peut être à vis ou à poids avec bras de levier.

La biomasse pressée est chargée dans une machine à faire les saucisses (un "poussoir" en inox, à manivelle ou motorisé) et mise en boyau plastique alimentaire de 50 mm de diamètre. Des noeuds en ficelle délimitent la longueur des saucisses qui correspond à celle du pistolet extrudeur (environ 35 cm). Les chapelets de saucisses sont mises au frigo au fur et à mesure de leur fabrication. Une partie de la production peut être sous forme de saucisses

plus courtes pour la vente fraiche. En variante, le poussoir, fixé verticalement, sert d'extrudeur de grande dimension, les plateaux de séchage défilant dessous.

Le matériel et le sol sont lavés à l'eau après usage, l'eau étant recueillie dans un puisard au point bas du sous-sol et envoyée à l'égoût par un vide-cave à commande par flotteur.

### A28.5) Nourriture de la spiruline

A la fin de la récolte on utilise la cuve de filtration pour transférer les sels (pesés au magasin situé juste au-dessus et transférés à la cuve par une chute en PVC) dans la cuve de carbonatation, en utilisant un jet d'eau et la pompe.

Cette cuve en ciment, de 4 m² de section et 3 m de profondeur, surélevée de 1 m. au dessus du sol, est reliée à un tube translucide permettant de connaître le niveau de liquide. Elle est aussi munie de bulleurs permettant l'injection de CO2 au fond. L'injection de CO2 (7 kg/jour) se fait de manière qu'aucune bulle ne sorte en surface (une échelle permet de surveiller cette surface). La durée d'injection peut être de plusieurs heures. Le fait que le CO2 soit dissout en l'absence de lumière favorise le rendement d'absorption, proche de 100 %, en raison de l'absence de dégagement d'oxygène. Le bullage permet aussi de terminer la dissolution des sels et d'homogénéiser la solution.

On arrête la carbonatation quand le pH désiré est atteint (généralement 9,5), et on procède ensuite à la répartition de la solution dans les bassins au prorata du milieu soutiré pour la filtration. Le transfert se fait par gravité.

Une deuxième cuve de 12 m3, identique, sert de cuve d'épuration du filtrat par décantation (voir Epuration). Elle peut être exploitée en discontinu ou par lots quotidiens.

### A28.6) Séchage

Pour l'extrusion on utilise un pistolet à colle en poches type Sika ("saucisson" en langage Sika Canada) de 600 ml de capacité, actionné par air comprimé. Le chargement du pistolet est instantané grâce au conditionnement de la biomasse en saucisses identiques aux poches de colle. En variante, comme dit en A28.3, le poussoir peut servir d'extrudeur de grande capacité.

La méthode la plus simple, et sans doute la moins chère en investissements, consiste à utiliser les séchoirs électriques Stoeckli; il en faut une douzaine pour sécher les 5 kg/jour, avec une fournée de nuit. Le séchage en étuve électrique demande un peu moins de travail parce que les plateaux sont plus grands. L'étuve peut être couplée à un capteur solaire (en toiture) ou à un déshumidificateur pour économiser l'électricité. Dans ce dernier cas, particulièrement adapté aux climats chauds et humides, le matériel ne doit pas être isolé thermiquement et l'air en circulation doit être refroidi en dessous de 35°C.

Les spaghetti secs sont versés dans un récipient intermédiaire de 100 litres à travers un entonnoir de dimension adaptée à celle des plateaux. Ils sont écrasés au pilon puis broyés et ensachés. Les emballages sont scellés sous vide par une machine du type utilisé pour emballer le fromage en Suisse.

#### A28.7) Personnel

Ce type de production semi-artisanale convient particulièrement à un couple résidant sur place; il n'y a alors normalement pas besoin de main d'oeuvre extérieure s'il est considéré comme acceptable de réduire la production en cas de maladie ou de congés.

Avec du personnel extérieur salarié, et pour assurer la production nominale tous les jours, il faut au minimum 3 personnes et de préférence 4.

### A28.8) Prix de revient

Le programme de calcul (voir Annexe A31) ne s'applique pas à ce type de projet semiartisanal.

On peut toutefois l'utiliser comme une première approche, à condition d'ajouter à l'investissement environ 8000 \$, ce qui porterait le prix de revient dans des conditions "africaines" à environ 15 \$/kg.

### A28.9) Conditions humaines pour la réussite du projet

Quelles conditions humaines faut-il réunir pour qu'un petit projet de spiruline réussisse?

- 1) Il faut qu'une demande solvable de spiruline se soit exprimée dès avant l'initiation du projet, et que le projet ait des perspectives de développement ultérieur, suite à des tests nutritionnels publiés et reconnus, et éventuellement à une campagne de publicité.
- 2) Il faut que le partenaire local désire fortement le projet et se comporte en vrai "patron", disposant des pouvoirs et des moyens voulus ainsi que du temps matériel pour s'occuper du projet. Il serait bon qu'il visite un projet de spiruline voisin pour qu'il voit bien de quoi il s'agit. Il est très souhaitable qu'il exprime par écrit ses objectifs tant vis-à-vis de ses collaborateurs que de l'ONG soutenant le projet.
  - 3) Il ne faut pas que ce "patron" soit muté ailleurs en cours de projet.
- 4) Il faut que le responsable technique à former soit capable de comprendre l'intérêt du projet et s'y implique fortement. Pour cela il doit être salarié et assuré correctement (pas "au noir") et travailler à plein temps sur le projet. Il ne doit pas être paresseux. Il doit mettre la main à la pâte, fabriquer ses outils de récolte, former lui-même son équipe et veiller à ce qu'il y ait un bon esprit d'équipe. Il doit être convaincu de l'intérêt à long terme de son nouveau métier d'algoculteur. Il doit aimer manger lui-même de la spiruline et accepter de goûter sa production pour en vérifier la qualité organoleptique. Il faut qu'il soit convaincu de la nécessité de travailler hygiéniquement. Il doit être au courant des prix.
- 5) Il est important que le responsable fasse lui-même quelques découvertes, ou ait l'impression d'en faire. Il faut donc lui laisser rapidement une certaine autonomie et des moyens (petit labo), tout en l'empêchant de sortir des limites prévues pour le projet (rester réaliste).
- 6) Il faut de bons moyens de communication avec l'ONG soutenant le projet (au moins fax), et la volonté de s'en servir, et ceci dans les deux sens (équipe locale-ONG et ONG-équipe locale).
  - 7) Il faut que le projet soit raisonnablement protégé des vols et des insurrections.
- 8) Il faut interdire l'accès du projet à toute personne non autorisée, car l'expérience montre que les bassins sont souvent confondus avec des poubelles (exemples de Nanoro au Burkina et Dapaong au Togo).
  - 9) Le personnel doit accepter de
    - venir très tôt le matin pour faire les récoltes,

- assurer une permanence à midi si l'agitation n'est pas automatique. Il est souhaitable qu'un membre de l'équipe habite sur place.
- 10) Il faut que des visiteurs de marque viennent voir le projet, mais pas trop souvent.

### A29) CHECK- LIST POUR DEMARRAGE DE SPIRULINE SUR NOUVEAU SITE

(N.B. Le maximum devra être trouvé sur place ; le reste devra être apporté)

Film PE de serre épaisseur 0,2 mm (pour bassin extensible)

Récipients genre "Tupperware" (pour test d'humidité et stockage de biomasse fraîche)

Bassines (blanches de préférence) dont une à bords droits

Seau plastique (blanc de préférence et gradué)

Balai plastique

Jarre graduée plastique de 1 litre

Etiquettes autocollantes

Papier filtre type filtre à café Mellita N°4

Entonnoir plastique

Pelle plastique à bord droit

Secchi

Sachets de sels pour 8 litres de milieu de culture initial

Kit d'analyse d'eau Merck (nitrate, sulfate, ammonium, calcium, dureté)

Balances électroniques 100 g (à 0,1 g) et 3 kg

Petits récipients plastique pour pesées

Seringues, compte-gouttes

Fonds d'évier plastique (pour presse)

Papier absorbant type Sopalin

Thermomètre (0 - 100°C), densimètre (1000 - 1050 g/l)

PHmètre avec une électrode de rechange

Etalons de pH 7 et 10 en gélules

Hygromètre digital

Piles de rechange

Pissette

Compresseur et pompes d'aquarium

Pompe vide-cave

Bidons plastique pour cultures labo, lampe de chevet 40 Watt

Tube souple diamètre 4 mm pour air + té avec robinets

Tube souple diamètre 10 mm pour pompe

Tuyau d'arrosage avec embout à jet réglable

Programmateur et prises multiples

Mètre de poche

Loupe (x25) ou microscope (x100)

Cystes (oeufs) d'Artémias et miniaquarium pour tests de toxicité

Tissus de filtration 30 µ en polyester

Tissus 315 µ en polyester

Grille plastique pour cadres de filtration

Extrudeuse

Séchoir électrique ou de quoi construire un séchoir solaire (moustiquaire, film plastique noir, ventilateur)

Sachets thermoscellables pour emballage spiruline

Kit de réparation de bâches plastique

Agrafeuse et agrafes

Outils de base (scie, tournevis, marteau, ciseaux) + clous, vis

Lampe de poche

Souche de spiruline 100 % spiralée ou ondulée

Manuel de culture artisanale (livre et diskette)

Bicarbonate de sodium

Sel de cuisine

Urée

Nitrate soluble

Phosphate soluble

Sulfate de magnésium

Sulfate de potassium

Sel de calcium soluble ou chaux

Oligoéléments

Ferfol ou Fetrilon (fer chélaté) ou acide citrique ou jus de citron

Acide chlorhydrique concentré

Soude ou potasse caustique ou carbonate de soude (ou sinon cendre)

Eau potable ou filtrée

### A30) Spiruline humanitaire dans les PVD (Texte de P. Ancel datant de mai 2004)

N.B. Le texte ci-dessous reflète l'opinion de son auteur qui a une longue expérience de la culture de spiruline en Afrique. L'auteur du présent Manuel est largement d'accord avec ce texte mais voudrait souligner qu'il vous est toujours possible de "cultivez votre spiruline" vous-même sans les contraintes socio-économiques que souligne à juste titre P. Ancel. Lorsqu'on cultive pour soi-même ou pour sa propre famille ou même ses voisins, il n'est pas obligatoire d'être "rentable" comme dans une entreprise qui doit rémunérer du personnel et présenter un bilan financier positif faute de disparaître. L'avantage de pouvoir consommer sa propre spiruline **fraîche** est tel que cela vaut bien de ne pas être "rentable". Toutes proportions gardées cela est semblable à la culture dans son propre jardin de variétés goûteuses de tomates, dont on ne saura jamais le prix de revient, mais dont on se souviendra longtemps du plaisir qu'on a eu à les manger!

### Spiruline humanitaire dans les PVD : penser au lendemain

### Introduction

Lorsque l'on est ONG, vouloir implanter dans les Pays en Voie de Développement des installations de culture de la spiruline est un objectif louable : lutte locale contre la malnutrition, amélioration des défenses immunitaires pour les enfants et les adultes des populations déshéritées, la spiruline, en attendant d'avoir conquis les principales organisations de santé internationales et le monde scientifique souvent sceptiques, n'en a pas moins sur le terrain de très nombreux adeptes, parmi lesquels les organisations de santé locales, les congrégations religieuses, les centres de réhabilitation nutritionnelle, les médecins et infirmiers ayant pu se rendre à l'évidence du « plus » apporté par la spiruline.

Nombreuses sont par conséquent les ONG, petites ou moyennes, à découvrir les mérites étonnants de l'arthrospira platensis, vulgairement la spiruline, puis à vouloir en implanter des cultures locales. Sur le principe de la fourniture des cannes à pêche plutôt que du poisson.

Cependant, lorsque l'on a trouvé un bon partenaire local, construit avec lui quelques bassins et démarré une culture, l'essentiel du travail reste à fournir par l'ONG, ce qu'elle ignore le plus souvent... De quoi s'agit-il?

### Une course d'obstacles...

Pour atteindre le succès, l'ONG rencontrera 3 obstacles majeurs, qu'elle aura lieu de prendre en compte si possible **avant** le démarrage du projet. Malheureusement, ses efforts sont généralement concentrés en amont de ces obstacles : choix du partenaire, mise en place du projet, conventions, recherche de fonds, constructions, démarrage des cultures absorbent l'essentiel de son énergie... Lorsque les difficultés réelles apparaissent sur le terrain, l'ONG n'est bien souvent pas préparée.

#### Obstacle 1 : maîtriser la culture

Les techniques de culture de la spiruline sont aujourd'hui bien connues... des spécialistes du domaine! Lorsque l'ONG débute dans des projets spiruline, il est rare qu'elle ait à sa disposition un de ces spécialistes. Force lui est



de débuter grâce aux conseils, écrits ou oraux de ces derniers, ou grâce à quelques connaissances acquises sur des missions antérieures. Citons ainsi l'existence du manuel de culture de spiruline artisanale de Jean Paul Jourdan, celui des Idées Bleues de Giles Planchon, ainsi que l'ouvrage de Ripley Fox : « Spiruline : technique, pratique et promesses ». Enfin, il est possible depuis avril 2004 de venir se former grâce à un cycle de 400 heures au Centre de Formation Agricole de Hyères, qui devrait permettre au débutant d'arriver à une certaine maturité.

L'effet trompeur provient du fait que le démarrage d'une

**culture de spiruline ne pose généralement pas de problème** : la souche et le milieu de culture sont neufs, les conditions de développement sont optimales. Cette période favorable, de quelques semaines à quelques mois, correspond généralement à la période de présence des représentants de l'ONG sur place. Ceux-ci repartent alors avec le sentiment de la « mission accomplie ». Les premières difficultés n'apparaissent en général qu'après le départ de l'ONG et sont accrues par trois facteurs :

- l'incapacité de l'acteur local, encore peu expérimenté, non seulement à trouver la cause, mais aussi à **décrire** le problème de culture rencontré,
- les difficultés et les délais de communication : langue, distance, liaison téléphonique...
- l'évolution très rapide de la spiruline, cyanobactérie, tout autant capable d'une duplication toutes les 7 heures que d'une mort subite. Nous avons ainsi pu constater la mort simultanée en quelques heures, de souches « Paracas » au Burkina Faso, développées sur trois sites différents distants de 10 à 30km... sans aucune explication rationnelle jusqu'à ce jour...

Force est de constater que la culture de la spiruline est un art relativement complexe pour le commun des mortels, encore accru par la distance. La difficulté observée, si elle a pu finalement être correctement exprimée, peut avoir plusieurs facteurs croisés. Parmi les problèmes les plus fréquemment posés, citons l'apparition des spirulines droites, spirulines fragmentées, le jaunissement plus ou moins rapide des cultures, les difficultés de filtration, de pressage, l'apparition de goût ou d'odeur désagréable, les éventuelles contaminations par d'autres algues, etc

A cela, ajoutons que le matériel cédé par l'ONG est parfois mal adapté ou rapidement mis hors service sur le terrain : pH mètres en panne ou mal utilisés, solutions étalons et kits d'analyse périmés, etc., qui rendront plus difficile la mise en évidence des causes, d'autant qu'elles peuvent être nombreuses, liées à des

facteurs tels que température, ensoleillement, nourriture, agitation, pH, etc.

Ainsi, contrairement aux idées reçues, le maintien en exploitation d'une unité de culture n'est pas chose facile : il faut expérimenter pendant plusieurs années pour pouvoir repérer rapidement, en arrivant sur un site, grâce à l'intuition et l'observation, le problème de culture. Dans le cas contraire, il faudra tâtonner, redémarrer plusieurs fois les cultures avant d'identifier l'origine des écueils rencontrés.

### Obstacle 2: former du personnel local

#### 1 - Acquérir le savoir-faire...

Lorsque la maîtrise de la culture par l'ONG est acquise, il s'agit alors de transmettre ce savoir à une petite équipe d'exploitation locale. Rappelons qu'il est quasiment indispensable de disposer sur place d'un partenaire sérieux et organisé, de facilités telles que l'eau, l'électricité et le téléphone. Pour les raisons précédentes et pour l'avoir expérimentée nous-même, la spiruline « de brousse », au sein d'une communauté villageoise, telle que souhaitée par certaines ONG, si elle voit le jour ici et là, essuie souvent des échecs. Force nous est de constater que la grande majorité des implantations réussies en Afrique (durée de vie > 5ans) sont pour l'instant le fait de congrégations religieuses locales stables et organisées.

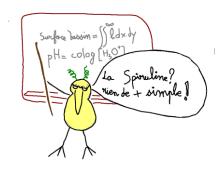
Transférer un savoir-faire ? Tout au plus pourrons-nous transférer un *savoir*, et attendre, avec la même patience dont nous avons fait preuve pour nous-mêmes, que l'exploitant local atteigne en quelques années ou dépasse même notre art de la culture.

Le transfert de *savoir* est relativement rapide : de quelques heures à quelques jours suivant les moyens pédagogiques et l'entendement des étudiants.

Bien choisir le futur responsable d'exploitation est essentiel : les qualités requises nous semblent à l'expérience les suivantes :

- savoir lire, écrire et communiquer rationnellement (niveau minimum : BEPC, de préférence, le baccalauréat, ou bac +2)
- savoir compter et pratiquer aisément la règle de 3 et le calcul mental
- savoir observer et ressentir les plantes : autrement dit, avoir la « main verte ». Cette qualité est souvent l'apanage des moins diplômés...
- si l'exploitation est importante, savoir commander et animer une équipe
- enfin et peut-être surtout, être totalement partie prenante de l'exploitation et de ses objectifs humanitaires

Soulignons que le responsable d'exploitation ne pourra pas être le responsable de l'organisation locale avec laquelle l'ONG a conclu un accord de partenariat, ce dernier, compte-tenu de sa position, étant le plus souvent appelé à d'autres tâches. Le responsable d'exploitation devra quant à lui consacrer la majorité de son temps à la spiruline (voire la *totalité* pour les exploitations de plus de 3 personnes) : l'évolution rapide de la spiruline n'autorise pas l'absentéisme.



Pour la formation de l'exploitant, on s'appuiera sur les ouvrages existants déjà cités. Cependant, ils ne seront pas exploitables en l'état, car souvent trop riches. Il est nécessaire de rédiger un « mode d'emploi de la ferme » adapté aux conditions particulières du site. A titre d'exemple, le site de Koudougou dispose d'un « manuel » de 8 pages, suffisant pour décrire l'ensemble des procédures de culture (ensemencement, nourriture, mesures et contrôles, problèmes rencontrés, etc.).

Il ne reste plus alors qu'à attendre au cours des années, les coups de fil avec les explications plus ou moins claires de l'exploitant, nombreux durant le premiers mois, puis qui s'espaceront lentement au fil des années. On pourra estimer que le transfert de technologie est assuré lorsqu'il n'y aura pas plus d'un appel au secours annuel...

### 2 – Apprendre à gérer son entreprise...

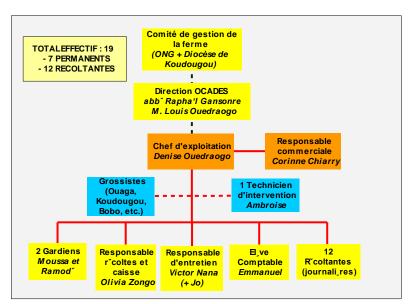
Dans le cadre de la formation, la maîtrise de la gestion d'une unité de production de spiruline, qu'elle ait 50 ou 5000 m2, est une étape tout aussi longue à acquérir pour l'exploitant. Par expérience, il nous semble qu'en Afrique, cet aspect est encore plus délicat à aborder, tant sont absentes des préoccupations locales les notions d'organisation, de discipline, d'anticipation, de procédures, de contrat, de comptabilité, pourtant piliers de toute entreprise.

Combien de fois se trouve-t-on à cours de bicarbonate de sodium, sans avoir pensé à renouveler le stock...? Combien de fois le site est-il délaissé pour des funérailles importantes dans le village à côté...? Pourtant, si le mil peut bien attendre une semaine ou deux avant d'être semé, la spiruline requiert des soins quotidiens si l'on ne veut pas retrouver des bassins jaunâtres après une journée d'absence.

Il faudra là encore quelques années de patience et de conseils pour que, peu à peu, chacun au niveau de l'exploitation se sente responsable, soit efficace, et que tout le monde soit présent à 7 heures le matin...

Finalement, la survie d'une exploitation, petite ou grande, passe par la professionnalisation progressive de l'équipe en place. Même si l'ONG démarre sur une base louable alter mondialiste, force lui sera de reconnaître qu'elle n'échappera pas aux principes universels de l'entreprise.

Ces notions n'empêchent en aucune façon le respect des principes humanitaires et le travail dans la bonne



humeur, au contraire. Quelques conseils utiles :

- Etablir un organigramme de l'exploitation, préciser les tâches de chacun par des « fiches de fonction ». Ceci jettera les bases d'un fonctionnement efficace et évitera bien des confusions. A titre d'exemple, nous donnons ci-après l'organigramme de la ferme Koudougou (Burkina Faso).
- Concentrer la responsabilité de l'exploitation, tant technique que financière, sur une seule et même personne: les décisions doivent être prises en tenant compte de la rapidité de développement de la cyanobactérie: les commandes d'intrants, de sachets, les réparations, et... la remise des salaires, n'attendent pas la décision d'un superviseur éloigné. Elles doivent être prises à chaque instant par le responsable d'exploitation.
- Etablir dès que possible une comptabilité de la ferme. Quelle que soit la solution de financement de l'exploitation, la connaissance des coûts d'exploitation est nécessaire. Il faut s'opposer à cette tendance naturelle dans les PVD visant à travailler au jour le jour, et à chercher de nouvelles recettes lorsque les caisses sont vides. De telles vérités, aussi banales, ne sont pas forcément claires dans tous les esprits,

tant au niveau du partenaire local que de l'ONG. En principe, aucun projet ne devrait voir le jour sans l'établissement d'un compte d'exploitation mensuel prévisionnel, préparé en parallèle avec le budget d'investissement. Ce compte d'exploitation sera par la suite ajusté en détaillant les postes clefs tels que salaires, intrants, réparations, consommables, eau, électricité, sans oublier, victimes trop souvent de l'amnésie africaine, les provisions pour remplacements!

Savoir impliquer le personnel dans le fonctionnement de la ferme. La notion de salaire est souvent assez abstraite pour un nouvel embauché, le plus souvent sans expérience d'un premier emploi. Le salaire peut apparaître comme un dû, quel que soit le travail effectué. Or il est essentiel que chaque employé comprenne que la ferme fonctionne uniquement grâce à la volonté et au labeur de chacun, qu'il « est » la ferme : le salaire perçu doit refléter les résultats de la production. Des primes à la productivité seront d'excellents moyens de prise de conscience et de motivation. Néanmoins, l'argent n'est pas tout, et ce sera le rôle du responsable d'exploitation que d'insuffler au sein de son équipe un bon état d'esprit. La communication au sein de son équipe est essentielle, avec des contacts directs et précis. L'Afrique, mais aussi d'autres PVD où le non-dit est prédominant, ne l'entendent pas toujours de cette oreille et les problèmes humains, dans les premières années, s'ajouteront aux problèmes techniques. Cependant, quelles que soient les difficultés d'implantation de l'esprit d'entreprise, nous pensons que le fait de travailler chaque jour pour une cause humanitaire constitue un moteur essentiel de réussite et de progrès rapide au sein d'une équipe.

Combien d'années va-t-

elle tenir???

### **Obstacle 3 : pérenniser l'exploitation**

Le troisième obstacle peut se résumer ainsi :

- Construire une ferme de culture a un coût
- **2** L'exploiter coûte, à la longue, beaucoup plus cher.
- **3** L'ONG et le partenaire local ont tendance à oublier le point 2.

Comment financer une exploitation sur 1, 5, 10 ou 20 années?

Solution 1: Micro-installations (qq dizaines de m2) - coûts d'exploitation pris en charge par le partenaire local ou par l'ONG

Le plus souvent, l'ONG se concentre alors sur la construction et le démarrage de la ferme. **Les aspects exploitations, notamment financiers, sont confiés au partenaire local :** congrégation religieuse, associations. Ils sont parfois pris en charge sur les premières années par l'ONG elle même. C'est le fonctionnement le plus courant des petites unités de spiruline qui ont été implantées en Afrique : Davougon (Bénin), Nanoro (Burkina Faso), Dapaong (Togo), Puits Bermeau (Niger), Agharous (Niger), Morandave 1 ère tranche (Madagascar), Gabon, etc.

Inconvénient : un lent traquenard financier. Au départ, l'ONG, pas plus que le partenaire local, n'a une réelle connaissance des coûts d'exploitation. Pour une petite installation de quelques dizaines de m2, produisant quelques kilogrammes de spiruline par mois, les coûts mensuels, prenant en compte salaires (ne pas oublier les gardiens!), intrants, ensachage, réparations et remplacements, eau, téléphone, électricité, seront de l'ordre de 80 à 150 euros (ordre de grandeur pour l'Afrique), soit entre 50 000 et 100 000 FVOIRA. Ces coûts, même modérés, sont une charge supplémentaire pour le financeur, dont il n'a pas souvent conscience à l'origine. Ainsi, les coûts d'exploitation d'unités de production dépassent en quelques années le coût de réalisation, ceci d'autant plus rapidement que l'unité sera petite. Finalement, produire de la spiruline sur de petites installations revient toujours plus cher que d'importer de la spiruline industrielle (environ 15 euros le kilo). La solution qui consiste à produire de la spiruline en milieu villageois ou par le biais d'une association locale humanitaire pour réduire le coût est souvent un leurre : personne ne travaille gratuitement sur de longues périodes, et les salaires, minimes au début, rattraperont rapidement les niveaux régionaux, même en brousse. Par contre, l'ONG aura à supporter en plus le manque de moyens logistiques et techniques locaux.

En conclusion, la prise en charge des frais d'exploitation par le partenaire local ou les ONG ne peut concerner que de petites cultures. La production restera limitée à quelques kilogrammes/mois, donc avec un impact humanitaire limité en regard des efforts fournis.

Avantages : faire connaître la spiruline et pouvoir la consommer fraîche. Quoi qu'il en soit, il est souvent intéressant de commencer par ces petites installations, pour « se faire la main », et parce que les coûts d'investissements sont faibles : environ 10 000 euros, si l'on prend en compte les frais de missions, les bassins, un petit bâtiment, l'achat de matériel et des intrants pour un ou deux ans, etc. Il faudra bien entendu clarifier le problème du financement des coûts d'exploitation avant de commencer.

Ces installations ont l'avantage de faire connaître la technique de culture de la spiruline, et de permettre la distribution de spiruline fraîche, plus efficace et plus facilement tolérée. On crée ainsi des « noyaux d'intérêt » de la spiruline dans les PVD, propices au démarrage, dans un deuxième temps, de plus grands projets, à objectif d'autofinancement.

### Solution 2: Autofinancer les coûts d'exploitation

Ce principe concerne les installations artisanales de plus grande taille, à l'heure actuelle de quelques centaines de mètres carrés.

On obtient l'autofinancement des coûts d'exploitations en commercialisant une partie de

la production (%c). L'autre partie est destinée à la distribution sociale.

**Remarques importantes:** la part sociale (%s) que peut fournir une exploitation n'est pas un objectif que l'on peut fixer « a priori » mais une conséquence :

- •du prix de revient de la production Pr
- •du prix de vente Pv, par la relation :

$$Ps.\%s + Pv.\%c = Pr (100 + marge d'exploitation)$$

$$\frac{\text{9/ns}}{\text{Pv} - \text{Ps}} = \frac{\text{Pv.}100 - \text{Pr} (100 + \text{marge d'exploitation})}{\text{Pv} - \text{Ps}}$$

### Exemple:

Pr (prix de revient) = 15 Euros/kg

Marge brute = 20%

Pv (prix de vente gros) = 23 Euros/kg

Ps (prix de vente social) = 6 Euros/kg

$$\frac{\%}{6}$$
 = 29%

### Comment augmenter le pourcentage social %s?

Les degrés de liberté sont finalement limités :

- Le prix de vente commercial « Pv » ne peut augmenter au delà d'un certain seuil : il doit tenir compte de la concurrence nationale et internationale, qui, si elle n'existe pas au démarrage du projet dans le pays considéré, ne manquera pas de s'installer dès lors que son succès attirera l'attention.
- On ne peut réduire la marge d'exploitation inconsidérément au risque de mettre en danger la santé financière de la ferme
- Le prix social dépend du pouvoir d'achat des plus démunis. Dans certains cas, il peutêtre nul! Pas question de l'augmenter...

>>> Reste la possibilité d'action sur le prix de revient Pr

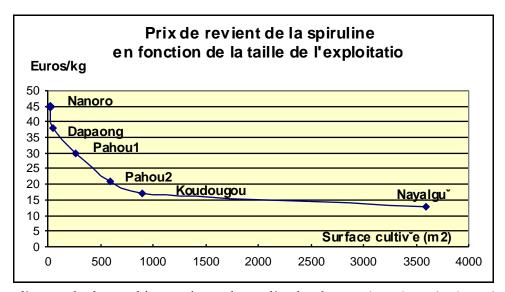
**\***Comment diminuer le prix de revient **Pr**?

On cherchera bien sûr à rationaliser l'exploitation, en améliorant notamment les techniques de récolte, d'ensachage, en trouvant des intrants moins chers, en diminuant la consommation énergétique (eau, électricité, gaz), etc.

Cependant, le moyen de loin le plus efficace consiste à **augmenter la surface de** l'exploitation, afin de bénéficier de l'effet d'échelle.

### Ainsi, on pourra:

- diminuer la part relative du personnel non productif (charges fixes)
- améliorer la productivité des récoltantes grâce à des ateliers centralisés et l'utilisation de pompes de récolte
- diminuer les coûts spécifiques d'entretien (séchoirs et bassins plus grands, matériel labo, informatique, frais de téléphone)
- diminuer le coût des intrants (achats en gros)
- diminuer le coût relatif de l'ensachage (commandes en gros), de la publicité
- limiter les coûts énergétiques (eau : utilisation de forage électricité : système solaire raccordé au réseau)



A titre d'exemple, le graphique suivant donne l'ordre de grandeur des prix de revient sur différentes exploitations africaines.

Туре	Surface exploitation (m2)	Productivit (g/j/m2)	Production annuelle (kg)		3.1	Prix de revient (Euro au kg)
Nanoro, Davougon	20	3	22	1	22	45
Dapaong	50	4	73	2	37	38
Pahou1	260	5	475	5	95	30
Pahou2	600	5,5	1 205	9	134	21
Koudougou	900	5,5	1 807	13	139	17
Nayalgu <sup>*</sup>	3600	6	7 884	40	197	13

[NDLR : dans ce document datant de 2004 « Koudougou » désigne la ferme de spiruline dite « du Petit Séminaire » à Koudougou et « Nayalgué » une autre ferme de spiruline également sise à Koudougou dont la taille devait atteindre à terme 3600 m² : les chiffres correspondant à Nayalgué sont une estimation extrapolée. D'autre part les chiffres indiqués sont pour une exploitation à pleine capacité, alors que dans la pratique il arrive qu'on travaille en souscapacité par manque de débouché ]

Inconvénients de l'exploitation autofinancée : cette solution n'est envisageable que pour des installations de taille moyenne : le point mort de rentabilité en Afrique (mais certainement aussi dans d'autres PVD) se situe à environ 400 m2. Réaliser plus petit conduit à un prix de revient de la spiruline le plus souvent incompatible avec le marché international. Le coût d'investissement sur ce continent étant de l'ordre de 15 000 Euros les 100m2 (bâtiments compris), on voit que l'on peut difficilement prétendre à l'autosuffisance de l'exploitation si l'on ne dispose pas d'un minimum de 60 000 à 100 000 Euros, ce qui n'est pas à la portée de toutes les ONG! Il faut alors demander un financement extérieur à des bailleurs de fonds institutionnels, ce qui est long et demande une certaine expérience.

Par ailleurs, les projets « moyens » nécessitent une solide connaissance de la culture de spiruline, une certaine rigueur dans l'organisation et la gestion, etc. On imagine que « rater » un projet de grande taille aura un impact considérablement plus large que si l'on avait échoué dans la culture de petits bassins...

Avantages : s'attaquer à la malnutrition à grande échelle. Créer une véritable richesse locale La ferme de culture autofinancée, une fois son équilibre atteint, possède bien des avantages :

- Il est évident que réaliser des installations qui produisent plusieurs tonnes par an de spiruline permet d'attaquer le problème de malnutrition à une échelle nationale, et de traiter des dizaines de milliers d'enfants malnutris. Il ne s'agit plus alors d'une curiosité locale, la spiruline peut être connue et consommée sur tout un pays.
- Le principe de l'entreprise responsabilise le partenaire local, ce que la perfusion par l'envoi de fonds réguliers (solution 1) ne peut pas faire. Une gestion mal contrôlée conduit en effet très rapidement le projet à l'échec : il y a donc obligation de résultat, ce qui crée peu à peu au niveau du partenaire local l'attention (et la tension) propice à la réussite.
- L'entreprise crée ainsi une véritable richesse **locale**, qui, outre le combat contre la malnutrition, fait travailler toute une équipe d'exploitation, des ateliers locaux pour la maintenance, des agents commerciaux, etc..

#### Conclusion:

Que les conseils ci-dessus, qui font parfois apparaître une réalité douloureuse, ne découragent pas les ONG débutantes. Il y a, avec la spiruline, une demande énorme dans les pays en voie de développement, partout où sévit la malnutrition. Son succès est dû à ses qualités nutritives remarquables, qui en fait le complément inégalé d'une alimentation pauvre. Il faut avoir été soi-même en situation de malnutrition dans ces pays pour se rendre compte de l'importance que peut prendre un flacon de spiruline dans son bagage, que l'on oubliera pourtant dans un placard une fois rentré chez soi. C'est la raison pour laquelle, quelles que soient les difficultés, la spiruline devrait peu à peu s'implanter dans les années à venir dans la plupart des pays africains.

#### A31) Adoucissement de l'eau trop dure

Lorsque l'eau contient trop de Ca ou Mg par rapport aux besoins de la spiruline, on peut soit ajouter au bassin plus de phosphate (qui va précipiter avec le Ca ou le Mg), soit passer l'eau sur un adoucisseur classique à résine échangeuse d'ion (mais on rejettera de l'eau contenant des chlorures, donc pollution), soit traiter l'eau dans une cuve avec des réactifs qui vont précipiter des carbonates insolubles (et non polluants pour l'environnement).

Pour ce dernier cas, on a le choix des réactifs :

```
1) à la soude :
Ca (HCO3)2 + NaOH = <u>CaCO3</u> + NaHCO3
```

2) au carbonate:

Ca(HCO3)2 + Na2CO3 = CaCO3 + 2 NaHCO3

3) à la chaux :

Ca(HCO3)2 + Ca(OH)2 = 2 CaCO3 + 2 H2O

A vous de choisir, sachant que si le Ca est sous forme chlorure, seul le carbonate sera actif.

NB 1 : Le Mg suit le même sort.

NB 2 : Il est fortement déconseillé de stocker l'eau épurée à la lumière car il y a risque de développement de microorganismes toxiques.

### **CALCULS**

(révision du 5 Mars 2010)

Les logiciels présentés ici en VisualBasic sont fournis gratuitement (pour usage non commercial et sans garantie). Ils remplacent ceux en version QBASIC, qui ne peut généralement plus être utilisée avec Windows Vista. Si vous n'arrivez pas à exécuter ces logiciels c'est qu'il doit vous manquer un utilitaire gratuit de Microsoft (voir avertissement). Il est impératif d'utiliser la virgule pour marquer les décimales.

Les liens ci-dessous renvoient aux logiciels hébergés sur le site des Petites Nouvelles, et donc l'accès nécessite Internet :

- Simulation d'une culture de spiruline : SPIRPAC-F
   (voir la Notice d'utilisation ci-dessous)
- <u>Durée du jour</u>: <u>Durjour</u>
   (utile pour créer de nouveaux sites dans SPIRPAC-F)
- Augmenter ou abaisser le pH d'un milieu : DeltapH
- Formules de milieu de culture et nourriture (voir Notice MEDFEED cidessous)
  - 1. Cas « classique » : MEDFEED1 (ancien MILNOUR)
  - Le même mais en version « sans salinisation » : MEDFEED2 (voir PN de Novembre 2009)
  - 3. Identique au cas classique sauf que l'eau de mer apporte le Ca et le Mg nécessaires : MEDFEED3

- 4. Cas où l'eau de cendre sert à apporter l'alcalinité et à faire l'appoint en K, l'eau de mer faisant l'appoint en Mg, Ca et Soufre et le Phosphore étant apporté par l'acide phosphorique: MEDFEED4
- 5. Cas de base au NPK, le Mg et le Ca nécessaires étant apportés par le sulfate de magnésium et le chlorure de calcium (ou la chaux) : MEDFEED5
- 6. Cas au NPK où l'eau de mer apporte Mg et Ca nécessaires : MEDFEED6
- 7. Cas au NPK où l'eau de mer n'apporte que le Mg nécessaire : MEDFEED7
- 8. Cas au NPK où l'eau de cendre apporte l'alcalinité et l'eau de mer le Mg nécessaire : MEDFEED8
- Cas classique au potassium et sans salinisation : MEDFEED9
- pH à partir de C ou C à partir du pH : pHexC

(C est le rapport molaire CO2/NaOH dans le milieu de culture)

 Consommation de CO2 par photosynthèse et absorption de CO2 à partir de l'atmosphère : ZABSCO2.exe

(en conditions fixes et en négligeant la respiration ; utile pour la formation)

• Evolution du pH et de la concentration d'une culture sans récolte : SPITFIX.exe

(en conditions fixes; utile pour la formation)

• Plan incliné : PLANINCLINE.exe

## Notice d'utilisation du logiciel

### SPIRPAC-F.exe

(Révision du 4 Mars 2010)

### <u>Avertissement</u>

Ce logiciel fonctionne sous Windows XP,VISTA ou 7 à condition d'avoir installé *Microsoft .NET Framework Version 1.1 Redistributable* 

### Si vous n'avez pas ce dernier sur votre disque, deux possibilités :

- le télécharger directement par internet (23 Mo); choisissez la version française (sinon lors de l'utilisation du logiciel SPIRPAC-F les virgules décimales sont parfois transformées en points : se conformer à la version disponible, sinon l'utilisation de points à la place de virgules décimales ou inversement provoquera une erreur).
- si vous disposez de la présente notice sur CD-Rom, installer dotnetredistr.exe, qui est en version française.

N'essayez pas d'exécuter directement le logiciel téléchargé, ce qui conduit à une erreur ; il faut d'abord l'enregistrer sur votre disque dur.

Le logiciel ne peut être envoyé par e-mail, car arrêté par l'anti-virus.

Avant d'utiliser le logiciel, créez un dossier C:/PERSO!

### Sommaire:

### A. Mode d'emploi

### **B.** Résultats

### C. Comment créer de nouveaux cas

ANNEXE 1 : Description détaillée du modèle de simulation ANNEXE 2 : Les facteurs influençant la photosynthèse

### A) Mode d'emploi du logiciel SPIRPAC-F

Avant d'utiliser le logiciel, créez un dossier C:/PERSO!

La résolution d'écran recommandée est de **1024 x768** pixels. Un écran 15 pouces au moins est préférable.

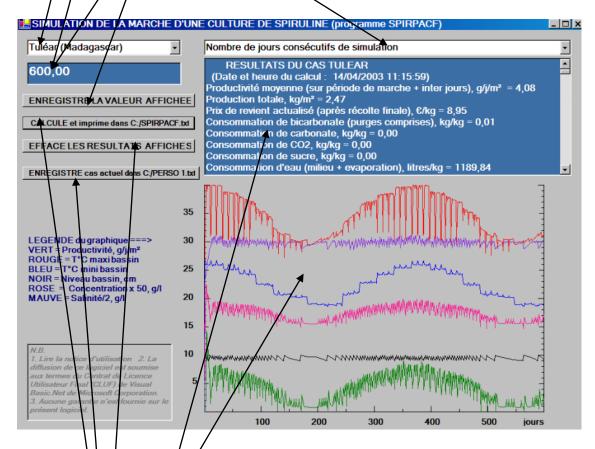
1. Choisir un cas dans la liste présentée

2. /Choisir **un paramètre** 

3. / Lire sa valeur

4. / **Modifier** éventuellement sa valeur

5. **Enregistrer** cette dernière



6. Effectuer le calcul quand on a modifié tous les paramètres voulus

7. Lire les **résultats** (qui sont copiés en même temps dans C:\SPIRPAC-F.txt)

- 8. **Sauvegarder** le cas si on veut le garder, sous le nom de C:\PERSO 1.txt
- 9. **Effacer** les résultats avant nouveau calcul avec de nouveaux paramètres ou sur un nouveau cas.

Dans le tableau des résultats journaliers, signification des en-têtes : PROD = g/j/m² CARBUR = g de carburant (pH et chauffe) /kg COP = COP de la PAC, moyenne sur la journée kWhrPAC = consommation électrique journalière de la PAC, en kWhr/m² WattPAC = puissance de crête de la PAC en cours de journée, W/m²

### B) Résultats

Les résultats se lisent soit sur les graphiques (attention aux échelles), soit sur le tableau journalier. Les concentrations en spiruline sont mesurées juste avant la récolte, et les pH sont mesurés à 19 heures.

### C) Comment créer de nouveaux cas

Plutôt que de changer les valeurs de paramètres par la méthode ci-dessus (§ A), il est possible d'écrire un fichier texte (.txt, via Accessoires/Bloc-notes par exemple) qui est une série de 183 valeurs de paramètres ou caractères délimiteurs, séparés par des virgules. Pour faciliter le repérage des paramètres, un délimiteur (une lettre majuscule entre guillemets) est placé après chaque série de 12 valeurs ; tout doit être sur une ligne pour que ça marche, et les décimales doivent être marquées par des points.

Voici la clé de compréhension des valeurs ci-dessus (la même clé vaut pour les données imprimées dans les résultats) :

### a) Données Météorologiques

- série avant A : moyennes des températures maxi (°C) journalières pour les 12 mois
- entre A et B : id pour températures mini, °C
- **B C** : températures de rosée, °C
- $\mathbf{C} \cdot \mathbf{D}$ : % de temps nuageux =  $(1 \text{fraction solaire}) \times 100$

N.B. Pour calculer la fraction solaire à partir des « heures de soleil par jour » il faut disposer de la durée du jour théorique, laquelle est facile à calculer avec le petit logiciel <u>durjour.exe</u>

- **D E** : vitesses du vent, m/s
- **E F** : coefficients de trouble de l'atmosphère (normal = 0.26, pollué= 0.5)
- **F G** : quantités de pluie, litres/m<sup>2</sup>

# b) Après les données météo du site, viennent les 79 paramètres d'exploitation des bassins, classés par ordre alphabétique (le même ordre que dans la liste déroulante permettant de visualiser les paramètres sur l'écran), et également par séries de 12 délimitées de la même

façon par des lettres (les nombres placés devant chaque ligne sont des numéros d'ordre utiles pour modifier le programme source) :

#### • 90 G

- 91 Ajout maxi bicarbonate de sodium, g/jour/m<sup>2</sup>
- 92 Ajout maxi CO2,g/jour/m²
- 93 Ajout maxi sucre, g/jour/m<sup>2</sup>
- 94 Alcalinité de l'eau d'appoint, moles/l
- 95 Alcalinité maxi autorisée dans le milieu, moles/l
- 96 Alcalinité du milieu neuf (> ou = alcalinité de l'eau d'appoint), moles/l
- 97 Altitude, m
- 98 Appoint d'eau : 1= possible, 0 = impossible
- 99 Azimut du plan de la culture (degrés d'angle ; 0 = Sud; 90 = Est)
- 100 Capacité de récolte maxi, g/jour/m²
- 101 Carburant (aucun = 0; CH4 = 1; C3H6 = 2; C4H8 = 3; MeOH = 4; EtOH= 5; CH4 dans biogaz = 6, CO2 dans gaz de compost = 7)
- 102 Coefficient d'absorption du CO2, moles/hr/m²/atm (normal = 20)

#### • 103 H

- 104 Coefficient d'ajustement de la fonction photosynthèse (normal = 1)
- 105 Coefficient d'ajustement de la fonction respiration (normal = 1)
- 106 Coefficient de modulation de la régulation de l'ombrage (entre 0 et 1)
- 107 Coefficient de modulation de la régulation d'aération (entre 0 et 10)
- 108 Coefficient de modulation de la vitesse du vent (entre 0 et 10)
- 109 Coefficient de transfert thermique de l'isolant ( $0 \text{ à} 10 \text{ W/m}^2/^\circ\text{C}$ )(ex: 2 cm de PS expansé = 1)
- 110 Concentration en CO2 dans l'air externe, vpm (normal = 382 en 2008)
- 111 Concentration minimum en sels "fixes" (chlorures, sulfates, nitrates), g/l (en principe
- = 12 40 x alcalinité si la salinité de l'eau = 0)
- 112 Concentration en spiruline après récolte, g/l (> 0,15)
- 113 Concentration iniitale en spiruline, g/I (> ou = 0,15)
- 114 Consommation de CO2, kg/kg de spiruline (normale = 1,8)
- 115 Débit d'aération de la serre, Nm3/hr/m²; quelconque si pas de serre

### • 116 I

- 117 Débit de carburant pour pH, g/hr/m² (quelconque si pas de carburant)
- 118 Frais fixes (amortissements, M.O., entretien...),  $\ell$ /m²/an ; si = 0, calculés automatiquement
  - 119 Frais de séchage, €/kg
  - 120 Frais de conditionnement et analyses, €/kg
  - 121 Heure moyenne de la récolte (si =12 on admet que la récolte dure 8 hr, avec frais fixes divisés par 4)
  - 122 Inclinaison du plan de la culture, en degrés d'angle par rapport à l'horizontale
  - 123 Isolation (pas isolé = 0; totale la nuit = 1; thermique de nuit = 2: thermique nuit et jour = 3)
  - 124 Jour initial (quantième dans le mois)
  - 125 Lampes, puissance en klux
  - 126 Latitude du lieu, degrés d'angle (entre 65 et 65  $^{\circ}$  ; < 0 dans l'hémisphère Sud)
  - 127 Lumière maxi autorisée (en klux) quand le bassin est à  $10^{\circ}$ C (par ex. 45 ; si = 0, la photolyse ne sera pas prise en compte)
  - 128 Mois initial (quantième dans l'année)

#### • 129 J

- 130 Nombre de jours d'arrêt de récolte consécutifs en fin de semaine (0,1,2 ou 3)
- 131 Nombre de jours consécutifs de simulation (600 maxi)
- 132 Nombre de jours d'arrêt inter-campagnes (nettoyage, entretien, redémarrage)
- 133 Nombre de jours sans ajout de bicarbonate de sodium, sucre ou CO2 en fin de campagne
- 134 Ombrage fixe intérieur (1) ou extérieur (0) à la serre
- 135 Option chauffe : débit de carburant pour électricité et/ou chauffage, g/hr/m²
- 136 Option prix de revient sans milieu de culture initial (0), ou avec (1)
- 137 pH du milieu de culture épuré recyclé (si < 8, pH en équilibre avec air extérieur)
- 138 pH de l'eau d'appoint (quelconque si son alcalinité est nulle)
- 139 pH du milieu de culture initial
- 140 pH qu'on cherche à obtenir par ajout de carbone (consigne de régulation)
- 141 Pourcent de CO2 (en volume) dans le biogaz ou le gaz de compost ; ne <u>doit pas</u> être nul dans gaz de compost

#### • 142 K

- 143 Pourcent d'ombrage fixe (actif nuit et jour)
- 144 Pourcent d'ombrage nocturne (écran thermique)
- 145 Pourcent de la chaleur de combustion transformé en électricité
- 146 Pourcent de la pluie tombant sur la surface du bassin admis dans le bassin (ouvert)
- 147 Pourcent de purge quotidienne maximum autorisé
- 148 Pourcent de la puissance des lampes contribuant au chauffage du bassin (>32)
- 149 Prix bicarbonate de sodium, €/kg
- 150 Prix carbonate de sodium, €/kg
- 151 Prix carburant, €/kg (quelconque si pas de carburant) (si biogaz = prix du CH4 contenu)
- 152 Prix CO2, €/kg
- 153 Prix de l'eau, €/m3
- 154 Prix de l'électricité 220 V achetée ou vendue, €/ kWh

#### • 155 L

- 156 Prix du phosphate monoammonique, €/kg
- 157 Prix du sel de cuisine, €/kg
- 158 Prix du sucre, €/kg
- 159 Prix du sulfate dipotassique, €/kg
- 160 Prix du sulfate de magnésium heptahydraté (sel d'Epsom), €/kg
- 161 Prix de l'urée, €/kg
- 162 Prix de vente maxi (à faible production), €/kg
- 163 Profondeur initiale de la culture, cm
- 164 Profondeur maximum de la culture, cm (> profondeur initiale)
- 165 Purge, ajouts carbone, eau, recyclage supprimés les jours d'arrêt de week end (1); ou maintenus (0)
- 166 Récolte seulement si pH >= valeur fixée ici (en général 9,6)
- 167 Recyclage de milieu de culture purifié, litres/m²/jour (si = 1, recycle = prodj automatiquement, valeur normale)

### • 168 M

- 169 Référence du cas
- 170 Rendement de récolte, % (= 100 % de pertes dans les boues, à la récolte, au séchage et emballage)
- 171 Salinité totale de l'eau d'appoint (tds), g/litre
- 172 Salinité maximum autorisée dans le milieu de culture, g/litre
- 173 Serre (1 si le bassin est sous serre, 0 sinon)

174 Serre à double paroi (0 si paroi PE simple, 1 si double paroi PE gonflée, 2 si double paroi PC, 3 si triple paroi PC)

175 Seuil de lumière avec isolation 0 (masques) et pour oter l'isolation 1 ou 2, klux sur bassin

176 Température bassin maximum autorisée, °C

177 Température de réchauffage par pompe à chaleur ou par carburant °C (si pas de pompe à chaleur : 0)

178 [Variable inutilisée]

179 Température en dessous de laquelle il peut y avoir photoinhibition (autour de  $23^{\circ}$ C); si = 0, photoinhibition non prise en compte

180 Valeur en eau équivalente des fonds et du bord du bassin, cm

#### • 181 N

182 Variation du prix de vente (baisse) en fonction de la production (= ventes) annuelle, €/kg par kg/m²/an

183 Vitesse moyenne d'agitation, cm/s (30 = vitesse maxi normale ; > 30 = productivités exceptionnelles)

184 Z : Température de régulation du chauffage par carburant,  $^{\circ}$ C (si pas de chauffage carburant : 0)

185 ZZ: Taux de purge minimum, %/jour

Une fois écrit ce fichier, l'enregistrer sous un nom de votre choix. Au moment de l'utiliser, enregistrez-le sous C:\PERSO 1.txt (ou l'un quelconque des cinq « PERSO ») pour l'utiliser.

Dans la pratique, on part généralement d'un exemple existant, on le modifie à l'écran, et on l'enregistre.

### ANNEXE 1

### Utilisation

Un intérêt du logiciel est de pouvoir optimiser rapidement la marche d'une culture de spiruline fonctionnant sur un site donné, dans des conditions climatiques données.

Il peut servir aussi comme aide à la conception d'un projet correspondant à un objectif donné, ou comme didacticiel ("simulateur de culture").

#### Résultats

Ils se lisent soit sur les graphiques (attention aux échelles), soit sur le tableau journalier. Les concentrations en spiruline sont mesurées juste avant la récolte, et le pH indiqué pour chaque jour est le maxi du jour.

### **Application**

Le modèle s'applique au cas d'un bassin à l'air libre ou fermé par une couverture translucide, avec ventilation contrôlée. Un mode de réalisation particulier de ce dernier cas est de tendre un film de serre par dessus les bords du bassin [Jourdan J.P. (1993) "Solarium spirulina farm in the Atacama desert (North Chile)", Bulletin de l'Institut océanographique, Monaco, N° spécial 12,

page 191]; un autre est constitué par le "bassin respirant" à aération naturelle par cheminée [Fox R.D. (1996) "Spirulina, production & potential", Edisud, Aix-en-Provence]; une gaine en film de serre, placée horizontalement et remplie partiellement de milieu de culture constitue aussi un mode de réalisation possible ("photobioréacteur"). Pour que la simulation s'applique il faut et il suffit que la surface de la culture en contact avec l'atmosphère soit égale à la surface éclairée. Le mode d'introduction de l'air est quelconque. Il n'y a pas de limitation à l'inclinaison et à l'orientation de la surface active de la culture (le milieu de culture peut ainsi être en écoulement sur un plan incliné comme dans les photobioréacteurs de type Setlik). La latitude du site d'installation doit être comprise entre les cercles polaires. La culture en eau de mer selon le Prof. Mario Tredici peut être simulée. Pour les climats froids, un chauffage et/ou un double vitrage et/ou un écran thermique nocturne facultatifs ont été prévus ; le chauffage est par pompe à chaleur ou par combustion de carburant propre et dans ce cas il est prévu en option la co-génération d'électricité et le CO2 de combustion peut servir à alimenter la culture (mais attention aux impuretés des gaz d'échappement, surtout le monoxyde de carbone qui est toxique); même si le chauffage par combustion s'avère trop onéreux dans la majorité des cas, on peut souvent utiliser valablement la combustion pour apporter du CO2. Une autre option facultative est l'isolation de la culture, avec plusieurs modes : soit isolation complète (adiabatique) sans aération ni chauffage la nuit, soit permettant l'aération et le chauffage la nuit seulement ou jour et nuit. On a ajouté une option (un peu théorique car bien inadaptée aux productions artisanales!) permettant un éclairage électrique sur les bassins. Une autre option permet de recycler du milieu de culture après épuration (et changement du pH). Enfin il est possible de réchauffer ou refroidir artificiellement le bassin par une pompe à chaleur. Ces options sont détaillées ci-dessous.

### Principes du calcul

Le programme simule le fonctionnement du bassin depuis son ensemencement jusqu'à son arrêt au bout d'un nombre de jours fixé (pouvant atteindre 18 mois). A partir d'un milieu de culture à pH donné ensemencé au temps zéro, on calcule la croissance des spirulines heure par heure ; un bilan thermique et un bilan carbone (absorption de CO2 de l'air + injection - consommation) permettent de calculer, également heure par heure, la température et le pH, qui eux-mêmes déterminent la vitesse de croissance.

La récolte a lieu chaque jour (à une heure au choix), sauf les jours d'arrêt hebdomadaire, et elle ramène la concentration en spiruline à une valeur au choix, sauf que la capacité de récolte journalière ne peut dépasser une limite à fixer. Mais il n'y a pas de récolte si le pH est inférieur à une limite (en général on choisit 9,6) ni pendant les congés du week-end (0 à 7 jours d'arrêt consécutifs par semaine). En fin de campagne on fait une récolte totale (jusqu'à la concentration d'ensemencement), et un certain nombre de jours sont consacrés aux opérations d'inter-campagnes. La productivité moyenne et le prix de revient prennent en compte ces jours d'inter-campagnes.

La température sèche de l'air ambiant et le rayonnement absorbé par la culture sont calculés heure par heure à partir des données météo chargées (valeurs moyennes mensuelles). La température de rosée de l'air, le facteur de trouble et la vitesse du vent sont supposés constants en cours de journée. Le pourcentage de nébulosité est concentré sur des jours 100 % nuageux (où la lumière à chaque heure n'est que 20 % de celle des jours 100 % ensoleillés), partiellement nuageux et 100 % ensoleillés répartis uniformément sur trois périodes de dix jours à l'intérieur de chaque mois, sans correction pour la température de l'air ambiant en fonction de l'ensoleillement ces jours-là. Un pourcentage (au choix) de la pluie pénètre dans le bassin à l'air libre.

Une purge (de filtrat) est pratiquée pour maintenir le niveau en cas de pluie excessive, ou pour maintenir l'alcalinité et, si possible, la salinité en dessous du maximum fixé. Les sels et éventuellement l'eau voulus sont ajoutés pour maintenir la qualité du milieu de culture.

De l'eau est aussi ajoutée pour compenser l'évaporation et maintenir le niveau entre le niveau normal (initial) et un minimum (1 cm en dessous du niveau normal). Mais une option permet de supprimer cet appoint, ce qui permet de simuler le cas des lacs naturels ne recevant pas d'autre eau que la pluie, ou bien de simuler le cas de pénurie d'eau.

On peut aussi pratiquer une purge pour maintenir la qualité du milieu, même s'il n'y a pas besoin de purger pour d'autres raisons : c'est purge minimum (variable 185).

Indépendamment de la purge il est prévu de pouvoir envoyer du filtrat vers un système d'épuration éliminant les matières organiques et modifiant le pH. Un même volume est recyclé simultanément au bassin ; il est admis que ce recyclage ne change ni la basicité ni la salinité "fixe" (sels non carbonatés) du milieu, ni le niveau de liquide dans le bassin, ni la température. Le pH du recyclat est fixé librement, mais en général proche de 10. Si l'on fixe un pH < 8, la valeur utilisée sera automatiquement celle correspondant à l'équilibre avec l'air extérieur.

Une option (variable n°165) permet de décider si les purges, l'appoint d'eau, l'alimentation carbonée (CO2 pur, sucre, bicarbonate de sodium) et le recyclage sont possibles ou non les jours d'arrêt hebdomadaire ; s'ils sont possibles ces jours-là, le volume de milieu à purger ou à épurer est filtré, et la biomasse récupérée est remise dans le bassin. Si on décide qu'ils ne sont pas possible, cela permet de simuler une absence pour congé par exemple, et fixer des paramètres (ombrage notamment) pour que la culture survive pendant ce temps.

La culture peut être ombrée et/ou chauffée et/ou isolée thermiquement.

Elle peut être complètement isolée (à la fois thermiquement et de l'atmosphère, avec chauffage coupé : option isol = 1) ou partiellement isolée (seuls les échanges convectifs et radiatifs pouvant être supprimés ou réduits, avec aération et chauffage maintenus : option isol = 2). En cas d'isolation complète, l'usage de carburant reste possible avec serre (mais l'alimentation en carburant est coupée en période isolée), et une aération minime est maintenue pour permettre la respiration (réduite à 20 % de la normale) de la culture mais elle est négligée du point de vue effet thermique et évaporation. L'isolation complète est applicable aux bassins sous serre comme aux bassins à l'air libre, alors que l'isolation thermique partielle est réservée aux bassins sous serre. L'isolation (options 1 et 2) est opérante si l'éclairement sur le bassin est en dessous d'un seuil prédéterminé (variable 175), variable très sensible. Il y a une autre option d'isolation partielle (isol = 3), exigeant serre et lampes, qui reste en place tout le temps.

Le degré d'isolation thermique partiel de la serre est réglable. Les options double vitrage de la serre, isolation thermique et ombrage sont compatibles.

Le double vitrage en option 1 est supposé en polyéthylène transparent aux IR. Le double vitrage en option 2 est supposé en polycarbonate alvéolaire à double paroi et l'option 3 en polycarbonate alvéolaire à triple paroi.

Deux types d'ombrage de jour sont prévus, et se cumulent ; l'ombrage dit "automatique", modulable, est automatiquement installé si les conditions de température et de lumière le demandent; l'ombrage dit "fixe" est permanent nuit et jour et peut être installé à l'extérieur ou à l'intérieur de la serre. L'ombrage intérieur permet de mieux chauffer la serre. Un écran thermique (ou "ombrage nocturne") peut être installé la nuit pour réduire le refroidissement nocturne ; il se cumule avec l'ombrage fixe éventuel, mais il est sans effet avec l'option isolation.

L'ombrage automatique est installé à l'extérieur de la serre pour être efficace du point de vue refroidissement, et cela complique son installation de sorte que dans la pratique on voit mal comment l'utiliser.

N.B.: Quand deux ombrages A et B sont "cumulés" cela signifie que la lumière pénétrant la culture est multipliée par (1 – ombrage A/100) x (1 – ombrage B/100).

La variable 175 permet de simuler les « masques » lorsque le soleil est bas sur l'horizon (même sans serre ni isolation).

L'aération de la serre comporte un élément fixe (< 35 Nm3/hr/m²) et un élément "automatique" modulable mis en œuvre selon la température du bassin.

L'apport de CO2 par combustion de carburant (qui ne représente en général qu'une faible fraction des besoins de chauffage) est découplé du chauffage des bassins ce qui permet une meilleure régulation et surtout une meilleure qualité des gaz de combustion. Le chauffage des bassins se fait par combustion de carburant dans une chaudière ou, de préférence, par l'intermédiaire d'un groupe électrogène (= cogénération, valorisation de la chaleur résiduelle). Le chauffage se fait nuit et jour mais il est automatiquement coupé si la température du bassin dépasse un seuil réglable et si isol = 1 la nuit ; la combustion se fait avec de l'air extérieur, avec 10 % d'excès.

Les bassins ouverts ne peuvent pas être chauffés par combustion de carburant, mais ils peuvent l'être par PAC (pompe à chaleur air/eau). Le coefficient de performance (COP) en chauffage est pris au quart de la valeur théorique, soit (273 + température du bassin)/(différence de température entre bassin et air extérieur) / 4. Le tableau des résultats fournit le COP moyen de chaque journée quand la PAC fonctionne, ainsi que la consommation électrique journalière et la puissance de pointe de la Pac

L'option éclairage artificiel des bassins sous serre se fait entre 4 et 21 heures quand l'éclairement naturel (mesuré sous ombrage éventuel) est inférieur à la puissance d'éclairement des lampes (celles-ci sont partiellement ou totalement allumées automatiquement pour maintenir le niveau d'éclairement à la valeur correspondant aux lampes entièrement allumées). Dans l'option isolation = 1, quand la culture est isolée les lampes ne peuvent évidemment pas s'allumer. La consommation électrique moyenne des lampes est supposée de 13 mW/lumen (soit 13 W/m²/klux, ce qui correspond à une moyenne entre les tubes fluorescents (17) et les lampes horticoles type à vapeur de sodium à haute pression moyennement usagées (10); lorsqu'elles sont neuves ces dernières peuvent descendre à 6,5 mW/lu. Dans l'option isolation thermique nuit et jour, les lampes sont allumées de 4 heures à 21 heures. La portion de la chaleur dégagée par les lampes admise dans la serre pour contribuer au chauffage est réglable de 32 à 100 %. Dans les option isolation thermique 2 et 3 les lampes sont situées sous l'isolant.

Dans le cas des bassins à l'air libre ces options ne sont évidemment pas toutes disponibles : l'ombrage fixe et l'écran thermique nocturne sont possibles.

La vitesse de photosynthèse peut varier selon les souches utilisées ou les circonstances (mortalité, prédateurs) ; elle est donc ajustable au moyen d'un coefficient.

Le programme de calcul ne tient pas compte de la disparition de spirulines par mortalité ou du fait de prédateurs (on admet pour ces deux cas qu'il y a recyclage du carbone à l'intérieur de la culture).

Pour tenir compte de la production des exopolysaccharides non inclus dans la récolte, pouvant varier selon les souches ou les conditions, et pour tenir compte aussi des variations possibles de composition de la spiruline suivant les souches, la consommation de CO2 par kg de spiruline n'est pas considérée comme fixe mais comme une variable ajustable.

On doit aussi fixer le rendement de récolte qui tient compte de la perte de spiruline dans les boues, et entre la filtration et le stockage du produit fini.

Le programme néglige :

- l'influence de la vitesse de circulation de l'air interne sur l'évaporation,
- l'effet de l'ombrage du aux bords du bassin par soleil non vertical,
- les variations de teneur en oxygène dans l'atmosphère interne,
- l'acidification ou l'alcalinisation éventuelles du milieu sous l'effet des nutriments (nitrates et urée),
  - la dureté éventuelle de l'eau d'appoint.

Salinité, alcalinité et pH de l'eau d'appoint sont pris en compte, ce qui autorise l'utilisation d'eau saumâtre et/ou alcaline. On admet que l'eau apporte le calcium nécessaire.

L'alimentation en carbone, commandée par la régulation de pH, peut se faire soit par ajout direct dans le milieu de culture de bicarbonate de sodium ou de sucre ou de gaz CO2 pur, soit par enrichissement en CO2 de l'air de la serre par du gaz de compost ou des gaz de combustion; un bilan-matières sur le CO2 entre l'entrée de l'air dans la serre et sa sortie permet de calculer la teneur en CO2 de cet air (supposé homogène). Le calcul tient compte du CO2 apporté par l'urée, par l'air frais d'aération et par le recyclage. Rien n'empêche de panacher les diverses sources de carbone.

Le risque de photolyse à basse température est signalé en cours de calcul lorsque la lumière sur le bassin dépasse une limite en klux calculée ainsi :

Limite = (lumière maxi supposée autorisée à 10°C = variable 76) x (température en °C du bassin/10) x (concentration en spiruline/0,4) x (vitesse d'agitation/30)

Le calcul de cette limite est un peu arbitraire et sert surtout à attirer l'attention sur le risque de photolyse. Ce risque dépend de la souche cultivée (par exemple pour la souche « Paracas » on pourra prendre 30 pour la variable 76 contre 45 pour la « Lonar »).

### Résumé des règles de limitation thermique adoptées en serres :

Nuit (sauf si isolation 1) et jour :

(tblim = température maxi autorisée pour le bassin)

- Aération

Si bassin < 37°C, débit normal

Entre 37 et tblim-2,5°C : débit normal + 10 fois le coefficient d'aération automatique

Entre tblim-2,5 et tblim-2°C : débit normal + 15 fois le coefficient Entre tblim-2 et tblim-1,5 : débit normal + 20 fois le coefficient Entre tblim-1,5 et tblim-1 : débit normal + 25 fois le coefficient Entre tblim-1 et tblim-0,75 : débit normal + 30 fois le coefficient Entre tblim-0,75 et tblim-0,5 : débit normal +35 fois le coefficient Si la température du bassin s'approche de moins de 0,5°C de la

limite autorisée : débit normal + 40 fois le coefficient

- Ombrage fixe = invariable
- Nuit :

- Ombrage (écran thermique) nocturne

#### Jour :

- Ombrage automatique =
0 si bassin < 30°C
50 % x coefficient si bassin entre 30 et 35°C
75 % x coefficient si bassin au-dessus de 35°C

### Résumé des règles de limitation thermique adoptées sans serre :

- Nuit et jour :
  - Ombrage fixe
- Nuit:
  - Ombrage (écran thermique) nocturne
- Jour :
  - Ombrage automatique =
    0 si bassin < 30°C
    50 % x coefficient si bassin entre 30 et 35°C
    75 % x coefficient si > 35°C
- N.B. 1. La modulation de l'aération et l'ombrage automatique ne s'appliquent pas si les bassins sont thermostatés à la même température nuit et jour par l'option PAC, voir <u>isotherme</u>.
- 2. Pour un bassin sans aucun dispositif d'ombrage, les variables n°106,143 et 144 doivent être fixées à une valeur nulle.

### Absorption de CO2 atmosphérique

La vitesse d'absorption est proportionnelle au coefficient d'absorption et à la différence des pressions de vapeur de CO2 dans l'air et sur le liquide. La pression de vapeur du CO2 sur une solution de carbonate/bicarbonate de sodium est donnée dans la littérature. Kohl et Riesenfield (1960) donnent dans "Gas Purification" [Kohl A.L. et Riesenfeld F.C. (1960) "Gas Purification", McGraw-Hill Book Co., à la page 117], une formule ayant comme variables la température, l'alcalinité et le rapport c (moles de CO2/mole de base), en mmHg:

```
pCO2 = 68,5 x b^{1,29}x (2c - 1)<sup>2</sup> / [(1 - c) x (333 - 1,8 x t) x (0,0487 - 0,0006 x t)]
```

οù

b = alcalinité du milieu absorbant, gmoles de base forte/litre

c = rapport molaire CO2/base correspondant au pH du milieu

t = température du milieu,°C

L'absorption du CO2, exprimé en g de spiruline/jour/m² (en admettant 1,8 kg de CO2 par kg de spiruline) est alors égale à 0,772 x ka x [0,00076 x vpm x (1 - alt/10000) - pCO2], formule où:

ka = coefficient d'absorption, gmoles de CO2 absorbés/heure/m²/atmosphère vpm = teneur de l'air en CO2, ppm volumiques alt = altitude, mètres  $0.772 = (44 \times 24)/(1.8 \times 760)$ 

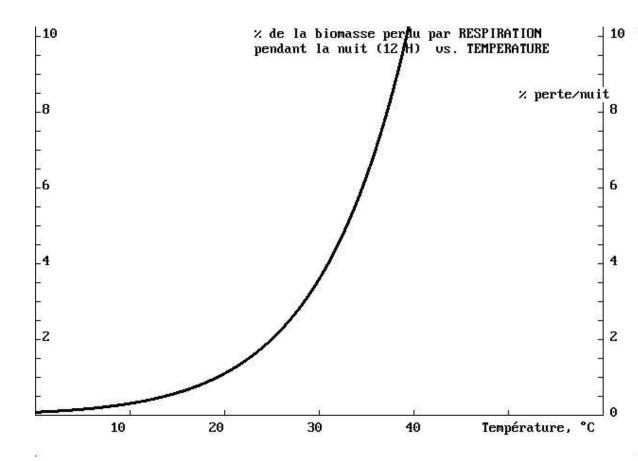
Le coefficient d'absorption du CO2 à travers la surface du bassin est réglable, mais généralement il est pris égal à la valeur expérimentale de 20 gmoles/heure/m²/atmosphère.

Le modèle combine ces deux formules pour calculer les échanges de CO2 entre l'atmosphère et le bassin.

### Respiration

La spiruline ne respire qu'en l'absence de lumière. De jour nous admettons qu'elle ne voit la lumière que dans la couche superficielle de hauteur égale au "Secchi" (nous avons adopté la courbe du Secchi correspondant à la souche dite "spiralée", avec milieu de culture non trouble) et qu'il n'y a pas respiration dans cette couche, mais qu'au-dessous il y a respiration ; ceci suppose que le milieu est agité (homogène). On admet que la respiration est réduite à 20 % de sa valeur normale en cas d'isolation complète nocturne (conformément à plusieurs expériences allant dans ce sens).

Pour quantifier la respiration normale nous utilisons les résultats de J.F.Cornet [Cornet J.F. (1992) "Etude cinétique et énergétique d'un photobioréacteur" Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, 27/02/1992, p. 115] pour la variation avec la température, mais pour la valeur de base à 20°C nous prenons une moyenne entre les indications de Cornet et celles de L. Tomaselli et al. [Tomaselli L., Giovanetti L., Pushparaj B. et Torzillo G. (1987) "Biotecnologie per la produzione di spirulina", IPRA, Monografia 17 (page 21)]. Ceci est bien sûr une approximation car la respiration dépend aussi de la teneur en hydrates de carbone dans la spiruline. Ces hypothèses servent de base pour la simulation et elles sont représentées par le graphique ci-dessous en fonction de la température quand l'oxygène n'est pas facteur limitant :



N.B. Il est possible de modifier cette courbe pour l'ajuster éventuellement à la réalité, grâce au paramètre appelé coefficient d'ajustement de la fonction respiration = variable N° 105 (voir liste des variables).

### Croissance par photosynthèse

a) Concentrations en biomasse supérieures à 0,1 g/l (cas général)

Nous admettons que la croissance de la spiruline par photosynthèse est le produit d'un coefficient d'ajustement et de 5 facteurs supposés indépendants et détaillés en Annexe 2 :

- facteur fonction de la salinité
- facteur fonction de la température
- facteur fonction du pH
- facteur fonction de l'éclairement
- facteur fonction du degré d'agitation du milieu de culture

Ce postulat, qui est au cœur du programme, n'est pas très étayé scientifiquement. La comparaison des figures 4 et 19 de la thèse de Zarrouk autorise à admettre que la fonction de la température est indépendante de l'éclairement ; les mesures de productivités sur nos bassins montrent que l'influence du pH, de la température et de la lumière sont en assez bon accord avec les hypothèses contenues dans ce postulat.

Par ailleurs ce postulat implique que la vitesse de photosynthèse ne dépend ni de la hauteur de liquide, ni de la concentration en spiruline, ni de la concentration en nutriments minéraux (autres que le bicarbonate de sodium), donc que la photosynthèse est proportionnelle à la surface éclairée. Autrement dit, nous faisons les hypothèses, largement vérifiées dans la

pratique aux concentrations considérées, que la croissance est dans la phase linéaire, non limitée par les nutriments minéraux, avec absorption totale de la lumière pénétrant dans le bassin. A noter que la quantité de spiruline par m² (hauteur de liquide x concentration) a cependant une influence sur la productivité par le biais de la respiration (cf § précédent).

Nous admettons aussi que la croissance de la spiruline est uniquement autotrophe. Si une croissance mixotrophe, ou même éventuellement hétérotrophe, se produit, elle sera fortement concurrencée par les organismes hétérotrophes cohabitant avec la spiruline dans le milieu (bactéries, zooplancton). L'erreur commise sur la croissance ne peut de toutes façons être que par défaut. Nous admettons donc qu'en cas d'apport de carbone par le sucre, celui-ci est oxydé en CO2 par un mécanisme quelconque.

La photoinhibition est prise en compte si la température du bassin tb est inférieure à un seuil ts (variable N°179) et si la lumière dépasse 20 klux sur le bassin, au moyen d'une formule très approximative donnant un coefficient de réduction de la photosynthèse égal à :  $1-0,035 \times (klux-20) \times (1 + tb/ts)/2$ .

b) Pour des concentrations en biomasse inférieures à 0,1 g/l la croissance est exponentielle, ce que le modèle traduit en multipliant la vitesse calculée en a) par dix fois la concentration (en g/l).

# Remarque sur la répartition spectrale de l'énergie lumineuse utilisée et le rendement des lampes :

La spiruline étant capable d'utiliser un spectre très large grâce à sa richesse en divers pigments photosynthétiques, les différences de répartition spectrale entre lumières solaires sous différents angles, latitudes, altitude, facteur de trouble, à travers vitrage de serre, etc et lumières artificielles sont négligées. Les "klux" (de lumière visible, tels que mesurés au luxmètre) sont supposés avoir l'équivalence suivante avec la puissance totale dissipée :

10 Watt/m²/klux pour le soleil

13 Watt/m²/klux pour les lampes modernes (type iodure ou sodium).

### Données de températures et rayonnement solaire

On admet que la température ambiante varie linéairement entre son minimum au lever du soleil et son maximum à 14 heures solaires. On calcule le rayonnement solaire absorbé par la culture comme on le fait pour un capteur solaire avec ou sans vitrage, à partir des équations astronomiques et thermiques classiques rappelées par exemple dans Chouard, Michel et Simon [Chouard Ph., Michel H. et Simon M.F. (1977) "Bilan thermique d'une maison solaire"].

### Bilan thermique

La température de la culture est calculée par bilan thermique entre les apports de chaleur (dont rayonnement solaire et chaleur de combustion) et les diverses pertes thermiques (on néglige les pertes vers le sol et les côtés du réacteur, mais on prend en compte une "valeur en eau équivalente" du fond et des côtés en l'ajoutant à la hauteur de liquide.

On admet que la culture et l'air interne de la serre sont homogènes en température et à la même température, et que l'inertie thermique de l'air est négligeable, mais on tient compte de la capacité thermique du flux d'air traversant la serre qui extrait de la chaleur par chaleur sensible et en se saturant d'eau. Les ajouts (eau, nutriments) sont supposés faits à la

température de la culture. On tient évidemment compte des apports de chaleur par le chauffage et les lampes.

On admet que l'ombrage réduit d'un même pourcentage le rayonnement solaire incident et les pertes thermiques par rayonnement, sans affecter les échanges thermiques par convexion.

On tient compte aussi de l'énergie solaire consommée par la photosynthèse en prenant comme valeur calorifique de la spiruline 20,9 kJ/g [Cornet J.F. (1992) "Etude cinétique et énergétique d'un photobioréacteur" Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, 27/02/1992, page 263)|. Les pertes thermiques par convexion vers l'atmosphère et par rayonnement vers le ciel sont calculées comme pour un capteur solaire selon les équations classiques, par exemple celles rappelées par R. Gilles (1976) [Gilles R. (1976), Promoclim A, N° spécial "Les piscines de plein air" (page 269), SEDIT, Paris] et Chouard, Michel et Simon (1977) [Chouard Ph., Michel H. et Simon M.F. (1977) "Bilan thermique d'une maison solaire"]. On néglige l'influence de l'inclinaison éventuelle comme il est justifié d'après P.I. Cooper [Cooper P.I. (1981) "The effect of inclination on the heat loss from flat plate solar collectors", Solar Energy, Vol. 27, N°5, pages 413-420].

### Consommation/Production d'électricité

Pour le calcul de la consommation d'électricité pour l'agitation (ou le pompage en cas de culture sur plan incliné), une équation très simple et plus ou moins arbitraire a été adoptée.

En cas d'utilisation de combustible, on peut en option produire de l'électricité par un groupe électrogène ; un excédent d'électricité est généralement disponible pour la vente ou d'autres usages. D'excellentes turbines à gaz miniaturisées sont disponibles. Il faut se méfier des impuretés des gaz d'échappement. Un simple brûleur peut donner des gaz plus purs qu'un moteur. Le groupe électrogène pourrait dans un futur que nous espérons proche être une pile à combustible propre.

La puissance électrique pour l'aération a été négligée (aération naturelle probablement suffisante), mais celle consommée par les lampes éventuelles, très importante, est évidemment prise en compte.

L'électricité est supposée achetée et vendue au même prix, avec raccordement à un réseau, les besoins et la production d'électricité n'étant pas forcément en phase (surtout si des lampes ou une pompe à chaleur sont utilisées).

### Calcul du prix de revient

Le modèle comporte un volet économique, permettant de calculer un prix de revient, en tenant compte d'un système de coûts fournis par l'utilisateur.

Le calcul du prix de revient est basé sur les consommations spécifiques correspondant aux formules suivantes :

- formule de milieu de culture sans nitrate contenant, en plus du sel et du carbonate et/ou du bicarbonate de sodium, par litre de milieu : 1 g de K2SO4 + 0,02 g d'urée + 0,08 g de NH4HPO4 + 0,16 g de sulfate de Mg + 0,001 g de Fer
- formule de nourriture comprenant, en g/kg de spiruline : 300 g d'urée + 50 NH4HPO4 + 40 K2SO4 + 30 sulfate de Mg + 0,5 Fer ; ce poste est considéré comme gratuit en cas d'utilisation de biogaz

- coût du fer (et des oligoéléments) négligé.

La semence est comptée au prix forfaitaire de 10 € le kilo compté en sec.

Une option permet de supprimer du calcul le milieu de culture (si l'on dispose d'un recyclage performant par exemple). Dans ce cas choisir une concentration initiale égale à la concentration après récolte.

Le calcul impute les frais fixes au prorata des jours d'utilisation (nombre de jours de marche + jours "intercampagne"). Si l'installation n'est pas utilisée toute l'année, il faut en tenir compte correctement, par exemple en incluant l'arrêt annuel dans les jours "intercampagne".

Pour l'évaluation automatique des frais fixes, en €/m²/an le modèle utilise les valeurs suivantes :

- cas de base : 20 avec serre simple paroi, 16 sans serre
- supplément pour double paroi PE gonflée : 1
- supplément pour double paroi PC : 2
- supplément pour triple paroi PC: 3
- supplément pour ombrage fixe : 2
- supplément pour ombrage modulable : 4
- supplément pour écran thermique nocturne : 2
- supplément pour récolte = (capacité de récolte, g/j/m²) x 0,3/ (concentration post récolte)/2

(si on peut récolter sur 8 heures - heure moyenne de récolte = 12 - ce poste est divisé par 4 automatiquement)

- supplément pour recyclage = (capacité de récolte, g/j/m²)
- supplément pour pompe à chaleur = 4 + 10 x puissance maxi en kWe
- supplément pour lampes = 2 par klux
- supplément pour groupe électrogène = 6
- supplément pour isolation = 4

(NB : Ces chiffres ne sont donnés que comme exemple d'orientation, et ne doivent pas être pris comme des estimations réelles).

On remarque que le séchage n'est pas inclus : le modèle ne s'applique qu'à la production de biomasse fraîche, par exemple prête pour "mix drying". Si l'on veut du produit sec, on ajoute un coût de séchage et conditionnement €/kg (variable N° 119).

On a ajouté un calcul de bénéfice basé sur un prix de vente supposé variable linéairement en fonction du niveau de production atteint.

#### Présentation des résultats

En cours de calcul un graphique apparaît sur l'écran, donnant la récolte quotidienne et différentes autres résultats en fonction des jours. Ce graphique peut être copié et imprimé en passant par la copie d'écran et le presse-papier.

Les résultats complets sont édités en fin de programme, en même temps que les données correspondantes, et peuvent être imprimés.

## **ANNEXE 2**

## Influence de la température, de la lumière, de l'alcalinité, de la salinité et du pH sur la photosynthèse de la spiruline

On peut admettre que la vitesse maximum de photosynthèse, dans un bassin bien agité, et dans les meilleures conditions de température, lumière, alcalinité, salinité et pH, est voisine de 1,8 g/heure/m² de bassin.

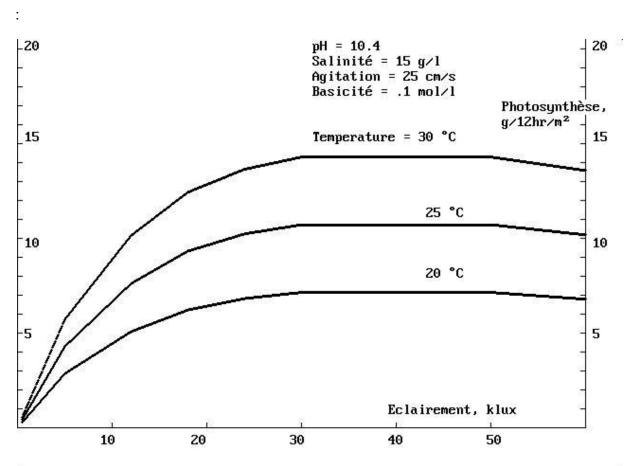
Cette vitesse peut d'ailleurs varier en fonction de la souche de spiruline et de la présence de catalyseurs.

Dans le programmes de simulation on fait l'hypothèse que la fonction photosynthèse est directement proportionnelle à des fonctions de la température, de l'éclairement, de la salinité, du pH et du degré d'agitation :

Vitesse de photosynthèse =  $k \times f(T) \times f(klux) \times f(salinité) \times f(pH) \times f(agitation)$ 

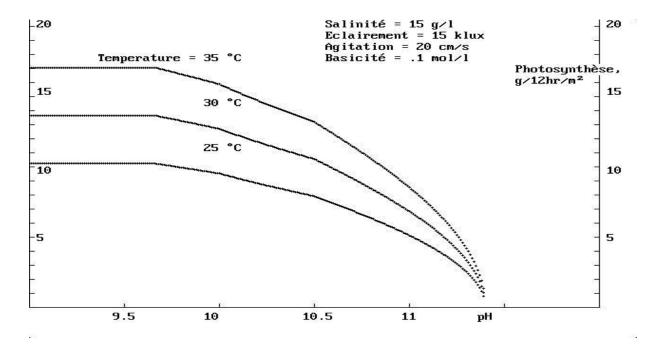
Cette hypothèse n'a pas de vraie base scientifique, mais elle facilite les calculs et elle ne donne pas de si mauvais résultats.

Voici quelques exemples de ces fonctions, qui sont largement inspirées de la thèse de Zarrouk (en tenant aussi compte de résultats expérimentaux) :

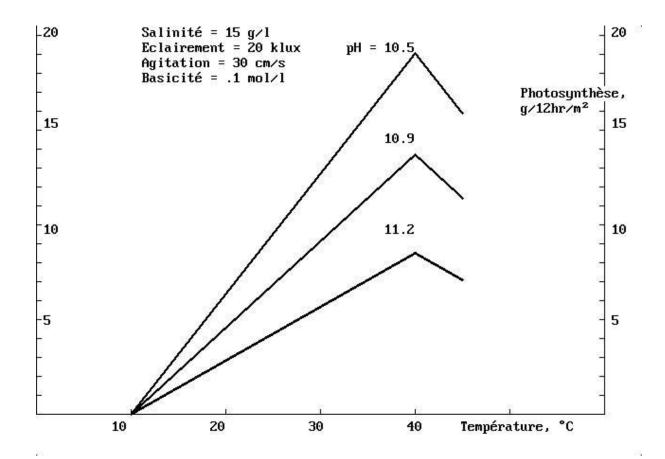


Vitesse photosynthèse de la spiruline en fonction de l'éclairement d'après la thèse de Zarrouk, Fig. 3 [Zarrouk C. "Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs

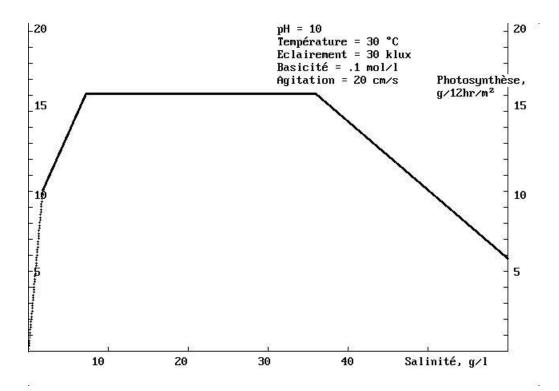
physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima (Setch et Gardner) Geitler", Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Paris, 06/12/1966]



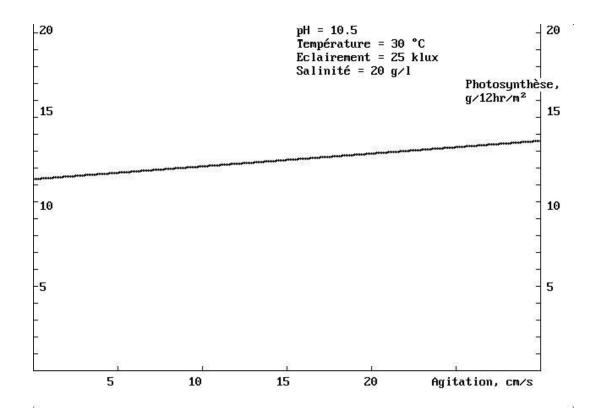
Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction du pH d'après la thèse de Zarrouk, Fig. 20



Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction de la température de la culture d'après la thèse de Zarrouk, Fig 19.



Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction de la salinité du milieu d'après la thèse de Zarrouk, Tableau IV



Vitesse de photosynthèse en fonction de l'agitation (fonction plus ou moins imaginaire, dans laquelle intervient aussi le pH, valable pour systèmes d'agitation habituels jusqu'à la vitesse de 30 cm/s; il est possible qu'avec des systèmes perfectionnés l'on puisse majorer nettement la vitesse de photosynthèse, mais nous n'en avons pas encore l'expérience : au delà de 30 cm/s la fonction est prévue pour tenir compte de cet effet, mais sans aucune base expérimentale quantifiée)

## **NOTICE MEDFEED**

#### NOTICE D'UTILISATION DES LOGICIELS MEDFEED

(Edition du 12 Mars 2010)

#### 1. But

Faciliter les calculs de milieux de culture de spiruline et de nourriture; à la main ces calculs sont simples mais fastidieux et répétitifs. Seuls une dizaine de cas sont présentés, mais ils couvrent déjà une large gamme.

## 2. Configuration requise

Ecrit en langage Visual Basic, ce logiciel tourne sur n'importe quel PC (Windows XP, Vista ou 7). Pour pouvoir imprimer les résultats il faut qu'un dossier C:/Medfeed ait été créé.

#### 3. Bases des calculs

• Milieu, en mg/litre de milieu

```
Ca >= 40

Mg >= 20

K >= 100

S >= 50

P = (Ca / 2 + 0.9 \times Mg) / 3 + 10

N ammoniacal <= 20

K / Na < 5 en poids

Cl >= 607 (basé sur 1 g de sel/litre minimum)
```

• Nourriture, en g/kg de spiruline sèche

Cl = 4,2 (on admet que la moitié du Na qu'on trouve dans la spiruline provient de sel résiduel du milieu de culture, d'où présence de Cl)

### 4. Principes

- On tient compte des éléments (Ca, Mg, K, S) contenus dans les eaux utilisées (y compris eau de cendre, eau de mer et eau servant à compenser l'évaporation), dans le sel et dans NPK
- On suppose que 1/3 des phosphates de Ca et de Mg précipitent (on sait qu'ils ont dans la pratique une forte tendance à rester en solution même quand leurs produits de solubilité disent qu'ils doivent précipiter)
- On renonce à utiliser le nitrate comme source d'azote, même dans le milieu de culture neuf, ce qui est possible dans la pratique. Mais on préfèrera souvent ajouter 1 g de nitrate/litre pour la facilité lors des démarrages de nouvelles cultures)
- On cherche à se tenir à la limite inférieure permise pour l'élément le plus rare

- Dans le cas d'utilisation d'eau de cendre pour apporter l'alcalinité, on admet que l'eau de cendre contient du sulfate dipotassique, et qu'elle est carbonatée à pH 10.
- Dans le cas d'utilisation de bicarbonate de sodium pour apporter l'alcalinité, on peut choisir le pH initial du milieu, et l'agent d'ajustement du pH (carbonate de soude ou soude).
- Dans le cas d'utilisation de NPK on admet qu'il contient du soufre sous forme de sulfate diammonique (cas usuel).
- Dans le cas où du calcium doit être apporté en plus de celui se trouvant dans les matières premières, on l'apporte sous forme de CaCl2 anhydre ou de chaux (à raison de 2/3 en poids par rapport au chlorure de calcium).
- Le "sulfate de magnésium" est le sel d'Epsom à 7 moles d'eau de cristallisation
- Si l'acide phosphorique disponible ou un des autres acides utilisés n'est pas à 100 % de concentration, il faut évidemment en tenir compte en majorant les valeurs trouvées.

#### 5. Commentaires

- Les nombres décimaux doivent être tapés avec une virgule et non pas un point, sinon erreur
- Les cas avec NPK, eau de cendre et/ou eau de mer sont plus particulièrement adaptés aux PVD

## **BIBLIOGRAPHIE**

N.B. Cette bibliographie n'a pas de caractère exhaustif, mais donne seulement la liste des articles ou ouvrages que nous ont été les plus utiles:

Achard M.A. (1994) "Etude et modélisation du transfert de CO2 dans les photobioréacteurs. Application à l'étude de la limitation par la source de carbone chez S. platensis", D.E.A. Université Blaise Pascal, Laboratoire de Génie Chimique Biologique.

Ayala F.A. et Benavente R.B. (1982) "An improved cheap culture medium for the blue-green microalga Spirulina", European J. of Appl. Microbiology and Biotechnology, 15, 198-199.

Becker E.W. (1995) "Microalgae, biotechnology and microbiology", Cambridge University Press.

Becker E.W. et Venkataraman L.V. (1982) "Biotechnology and exploitation of algae, the Indian approach"

Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco (1993), Numéro spécial 12: "Spiruline, algue de vie".

Bucaille P. "Intérêt et efficacité de l'algue spiruline dans l'alimentation des enfants présentant une malnutrition protéino-énergétique en milieu tropical". Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, 10/10/1990.

Busson F. (1971) "Spirulina platensis (Gom.) Geitler et Spirulina geitleri J. de Toni, cyanophycées alimentaires", Service de Santé, Parc du Pharo, Marseille.

Challem J.J. (1981) "La spiruline, apprenez à la connaître dans l'intérêt de votre santé" Editions Générales de Diététique, 74108-Ville-la-Grand.

Chouard Ph., Michel H. et Simon M.F. (1977) "Bilan thermique d'une maison solaire"

Ciferri O. (1983) "Spirulina, the edible microorganism", Microbiological Reviews, 47, 551-578.

Cooper P.I. (1981) "The effect of inclination on the heat loss from flat plate solar collectors", Solar Energy, Vol. 27,  $N^{\circ}5$ , pages 413-420.

Cornet J.F. (1992) "Etude cinétique et énergétique d'un photobioréacteur" Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, 27/02/1992.

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Atti del convegno "Prospettive della coltura di spirulina in Italia", Firenze, 20-21/11/1980.

Consiglio Nazionale delle Ricerche (1987), IPRA Monografia  $N^{\circ}$  17 "Biotecnologie per la produzione di spirulina".

Desikachary T.V. (1959) "Cyanophyta", Indian Coucil of Agricultural Research, New Delhi, Inde.

Dillon J.C., Anh Phan Phuc et Dubacq J.P. (1995) "Nutritional value of alga spirulina", Plants in Human Nutrition, World Rev. Nutr. Diet., (Karger, Basel), 77, 32-46.

Dupire J. (1998) "Objectif: Malnutrition", Editions Similia, Paris

Durand-Chastel H. et Clément G. (1972) "Spirulina algae: food for tomorrow", Proc. 9th int. Congr. Nutrition, Mexico (Karger, Basel), 3, 85-90.

Fox R.D. (1986) "Algoculture: la spirulina, un espoir pour le monde de la faim", Edisud, Aix-en-Provence

Fox R.D. (1996) "Spirulina, production & potential", Edisud, Aix-en-Provence

Fox R.D. (1999) "Spiruline, Technique pratique et promesse", Edisud, Aix-en-Provence

Falquet Jacques (1996) "Spiruline, Aspects nutritionnels", Antenna Technologie, Genève.

Flamant Vert (1988) "Produire de la spiruline en systèmes autonomes", Editions de la Tempresse , Eaux-Vives, Suisse

Frappier R. (1992) "La spiruline, un aliment précieux pour la santé", Les Editions Asclépiades Inc., Montréal.

Farrar W.V. (1966) "Tecuitlatl: a glimpse of Aztec food technology", Nature, 211, 341-342.

Funteu F. "Effet des facteurs de l'environnement sur le métabolisme lipidique et activités biologiques des substances lipophiles chez une cyanobactérie filamenteuse, Spirulina platensis", I.N.R.A. Paris-Grignon, 18/09/1996.

Gilles R. (1976), Promoclim A, N° spécial "Les piscines de plein air" (page 269), SEDIT, Paris

Guérin-Dumartrait E. et Moyse A. (1976) "Caractéristiques biologiques des spirulines", Ann. Nutr. Aliment. 30, 489-496.

Henrikson R. (1994 et 1997) "Earth food Spirulina, How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet", Ronore Enterprises Inc., U.S.A.

Henrikson R. (1994) "Spirulina, superalimento del futuro", Ediciones Urano, Barcelone.

Iltis A. (1974) "Le phytoplancton des eaux natronées du Kanem (Tchad), influence de la teneur en sels dissouts sur le peuplement algal", thèse de doctorat, Université de Paris VI.

Jeeji Bai N.and Seshadri C.V. (1988) "Small scale culture of Spirulina (Arthrospira) as a food supplement for rural household - technology development and transfer", Arch. Hydrobiol. Suppl. 80, 1-4, 565-572

Jourdan J.P. (1993) "Solarium spirulina farm in the Atacama desert (North Chile)", Bulletin de l'Institut océanographique, Monaco, N° spécial 12.

Jourdan J.P. (1993) "Survival type production of spirulina", 6th International conference on applied algology, Ceske Budejovice.

Jourdan J.P. (1996) "Sugar as a source of carbon for spirulina (Arthrospira platensis) culture", International symposium on Cyanobacterial biotechnology", Bharathidasan University, Tiruchirapalli, Inde.

Kohl A.L. et Riesenfeld F.C. (1960) "Gas Purification", McGraw-Hill Book Co.

Lembi Carole A. & Wanlands J. Robert (1989) in "Algae and Human Affairs", Cambridge University Press, page 191

Manen J.-F. et Falquet J. "The cpcB--cpcA locus as a tool for the genetic characterization of the genus Arthrospira (Cyanobacteria): evidence for horizontal transfer " in International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2002), <u>52</u>, 861-867

Manoharan R. "Improvement of bioavailable iron in Spirulina fusiformis", Spirulina ETTA National Symposium, MCRC, Madras (1992), p. 98

MELISSA (1996) "Final report for 1995 activity", Agence Spatiale Européenne, Noordwijk, Hollande

MELISSA (1997) "Final report for 1996 activity", Agence Spatiale Européenne, Noordwijk, Hollande

Michka (1992) "La spiruline, une algue pour l'Homme et la Planète", Georg Editeur SA, Genève.

MCRC (1993) "Large scale nutritional supplementation with spirulina alga", Final project report, Department of Biotechnology, Ministry of Science and Technology, New Delhi, Inde.

Montenegro Ferraz C.A., Aquarone E., Florenzano G., Balloni W. et Tredici M. "Utilização de subprodutos da industria alcooleira na obtenção de biomassa de spirulina maxima, Parte I - emprego do anidrido carbonico".

Paniagua-Michel J., Dujardin E. et Sironval C. (1993) "Le Tecuitlal, concentré de spirulines source de protéines comestibles chez les Aztèques", Cahiers de l'Agriculture 1993; 2, 283-287.

Puyfoulhoux G., Rouanet J-M., Besançon P.,Baroux B., Baccou J-C.,Caporiccio B. (2001) "Iron availability from iron-fortified spirulina by an in-vitro digestion/Caco-2 cell culture model", J. Agric. Food Chem., Vol 49, Issue 3, pp 1625-29

Saury A. (1982) "Les algues, source de vie", Editions Dangles, 45800 Saint Jean de Braye.

Seshadri C.V. et Jeeji Bai N. (1992) "Spirulina ETTA national symposium", MCRC, Madras, Inde.

Tomaselli L., Giovanetti L., Pushparaj B. et Torzillo G. (1987) "Biotecnologie per la produzione di spirulina", IPRA, Monografia 17 (page 21)

Venkataraman L.V. (1993) "Spirulina in India", Proc. National Seminary Cyanobacterial Research-Indian Scene, NFMC, BARD, Tiruchirapalli, Inde.

Vonshak A. (1997) "Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology, and Biotechnology", Taylor and Francis

Warr S.R.C., Reed R.H., Chudek J.A., Foster R. et Stewart W.D.P. (1985) "Osmotic adjustment in Spirulina platensis", Planta 163, 424-429.

Willcock C. (1974) "La grande faille d'Afrique", Editions Time-Life, Amsterdam

Zarrouk C. "Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima (Setch et Gardner) Geitler", Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Paris, 06/12/1966.

#### **DERNIERES REVISIONS**

<u>Révision du 23 Avril 2010 :</u> abaissé de 0,05 à 0,04 la dose d'urée en cas de géométrie variable.

Révision du 16 Avril 2010 : corrigé un lien corrompu

Révision du 5 mars 2010 : dans le logiciel de simulation Spirpac-f, porté la durée maxi du congé de week-end à 7 jours, modifié les variables n°112 (qui devient la concentration après récolte) et n°113 (qui devient la concentration initiale en spiruline) et rendu la variable n°175 efficace dans tous les cas (simule les masques dans les cas où il n'y a pas d'isolation du bassin)

Révision du 11 janvier 2010 : ajouté la variable 185 à Spirpac-f, et mis les logiciels :

Absorption de CO2, Zabsco2, et Spitfix en VisualBasic

Révision du 16 juillet 2009 : modifié le chapitre Culture

Révision du 4 juillet 2009 : modifié le chapitre Présentation

<u>Révision du 30 Juin 2009</u> : ajouté au chapitre Nourriture un exemple de « fixation » d'azote très élecée ;

<u>Révision du 14 mai 2009</u>: ajouté au chapitre Séchage la finition du séchage au sèche-linge <u>Révision du 14 janvier 2009</u>: dans « Récolte » ajouté la pratique de Nayalgué de laver la biomasse à l'eau salée à 5 %.

Révision du 7 janvier 2009 : dans Spirpac-f, si la récolte est répartie sur toute la journée on attribue à la variable heure moyenne de la récolte la valeur 12, ce qui divise automatiquement par 4 les frais fixes de récolte. (Modification non faite dans Spiru-f).

Révision du 15 Novembre 2008 :

- perfectionné Spirpac-f en ajoutant options double et triple vitrages en PC, et modifié légèrement la translucidité du double vitrage PE. Ces modifications n'ont pas été faites dans Spiru-f, par manque de place, sauf la modification de translucidité.
- Corrigé le calcul du surplus d'électricité dans Spirpac-f (qui était basé sur la production totale hors remise à son niveau initial de la concentration en spiruline finale). Cette erreur n'est pas dans Spiru-f.
- Dans le chapitre « Nourriture » ajouté un § à la note c pour expliquer que la nourriture mixte urée/nitrate est compatible avec l'utilisation d'urée seule

Révision du 13 Novembre 2008 : corrigé les formules du butane et du propane dans « carburant »

Révision du 12 Novembre 2008 dans spirpac-f et spiru-f : suite à une campagne de mesure de la lumière par temps 100% couvert, on a augmenté de 15 à 20 % la lumière (% de la lumière par temps clair)

Révision du 7 Novembre 2008 : dans spiru-f et spirpac-f :

- annulé le coût des engrais en cas d'utilisation de biogaz
- corrigé le chauffage gaz et la régulation de température dans le cas isolation N°3

#### Révision du 30 Octobre 2008 :

- corrigé le calcul initial de la température du bassin en cas de chauffage par carburant dans spiru-f
- corrigé la consommation de carburant de chauffe dans spiru-f et spirpac-f

Révision du 22 Octobre 2008 : corrigé une erreur dans une alerte dans Spirpac-f Révision du 29 septembre 2008 : dans spirpac-f et spiru-f correction d'une erreur de calcul du pouvoir calorifique du carburant dans le cas biogaz

Révision du 22 septembre 2008 : dans spirpac-f et spiru-f on sépare les débits gaz pour régulation et pour chauffage

Révision du 10 septembre 2008 : simplification de la formule d'oligoéléments, selon recommandations de Cogné et al. (Clermont-Ferrand)

Révision du 19 août 2008 : corrigé une petite erreur de programmation concernant l'option isolation = 3 dans Spiru-f et Spirpac-f

Révision du 20 juillet 2008 : modifié légèrement le chapitre Culture (§ Agitation), et fait une correction mineure dans Spiru-f (impression des résultats).

Révision du 11 juillet 2008 : dans les Annexes, mesure du pH : modifié le coefficient de température

Révision du 30 juin 2008 : dans Spirpac-f et Spiru-f modifié l'impact du risque de photoxydation sur l'ombrage automatique, et introduit des frais fixes pour ombrage. Révision du 26 Juin 2008 : dans Spirpac-f et Spiru-f divisé par 4 les frais fixes de récolte au cas où il n'y a pas de séchage (puisqu'on peut récolter toute la journée)

#### Révision du 23 Juin 2008 : modifié Deltaph.exe en Visual Basic

Révision du 5 Juin 2008 : amélioré les fonctions C ex pH et pH ex C dans SPIRU-F et dans SPIRU-E.BAS (impossible de le transcrire en .EXE, programme trop long), et dans CEXPH. Révision du 13 mars 2008 : modifié légèrement SPIRPACF (rebaptisé SPIRPAC-F) et SPIRU-F pour leur permettre de traiter le cas de l'eau de mer.

Révision du 12 janvier 2008 : modifications importantes au logiciel de simulation SPIRPACF, pour intégrer les modifications de SPIRU-F et SPISIMP3.

Révision du 15 septembre 2007 : modifications majeures dans le programme de simulation SPIRU-F, non faites dans SPIRU-E ni SPISIMP3. Ces modifications comprennent l'introduction des variables 86 (option photoinhibition) et 92 (option ombrage intérieur) ainsi que de l'alerte de danger de photolyse.

Révision du 10 Août 2007 : modifié SPIRU-F, SPIRU-E et SPISIMP2 (modifié en SPISIMP3) en ce qui concerne la limite d'éclairement à basse température.

Révision du 23 juillet 2007 : modifié SPIRU-F, SPIRU-E et SPISIMP2 en ce qui concerne la limite d'éclairement à basse température.

Révision du 7 juillet 2007 : supprimé la variable 86 (augmentation température du globe) dans SPIRU-F et SPIRU-E

Révision du 16 juin 2007 : modifié SPIRU-F, SPIRU-E et SPISIMP2 (notamment monté de 5°C les limites inférieures de température de marche)

Révision du 14 Juin 2007 : ajouté un commentaire sur la différence entre Zarrouk et Vonshak dans les chapitres Calcul et Annexes

Révision du 9 Juin 2007 : dans l'Annexe Culture/ombrage, ajouté des précautions supplémentaires pour éviter la photolyse.

Révision du 4 juin 2007 : dans chapitre Calcul, supprimé la régulation par aération automatique à température < 38  $^{\circ}$ C

Révision du 28 mai 2007 : ajouté au Chapitre Milieu une remarque au sujet de l'injection d'acide phosphorique

Révision du 10 mai 2007 : ajouté un avis concernant la spiruline fraîche dans le chapitre Consommation

Révision du 20 avril 2007 : petit ajout au § Conditionnement du chapitre Séchage Révision du 12 avril 2007

• Améliorations mineures dans les chapitres « Semis » et « Culture »

Révision du 31 mars 2007

- Dans le chapitre CALCUL :
  - ajouté que l'option isolation nocturne totale est possible même sans serre
  - ajouté que le coefficient d'absorption du CO2 et le coefficient d'ajustement de la photosynthèse peuvent être majorés de jusqu'à 50 % en cas de vagues et mousses à la surface du bassin
  - ajouté que la relation pH/rapport CO2/base, établie expérimentalement entre les alcalinités de 0,02 et 0,30, est admise valable en dehors de ces imites.

Révision du 19 mars 2007

- Modifié le § traitant de la spiruline bio dans le chapitre Nourriture
- Ramené l'urée dans la nourriture à 300 g/kg dans le chapitre Nourriture et dans le logiciel Milnour

Révision du 7 mars 2007

• Suppression des rotifères comme prédateurs des spirulines droites

Révision du 22 janvier 2007

• Modifié Spiru-f, Spiru-e (et Spisimpl et Spirpacf) pour que l'isolation nocturne complète ne coupe pas l'aération de la serre (mais coupe l'alimentation en carburant). L'usage de l'isolation nocturne complète (par exemple en liaison avec des bassins en plans inclinés) devient possible tout en alimentant la serre en CO2 dilué pendant le jour, ce qui était exclu avant. Elle est possible aussi avec des bassins en plein air.

Révision du 6 janvier 2007

• Modifié Spiru-f, Spiru-e (et Spisimpl et Spirpacf) pour ne mettre en place l'isolation nocturne (options isol = 1 et 2) que quand l'éclairement descend à un seuil prédéterminé (variable 87) et pour rendre possible l'option 1 pour la variable 77 (calcul automatique du recyclage recycle = prodj) dans tous les cas, indépendamment du calcul automatique des frais fixes.

• Quelques autres modifications (mineures) dans Chapitre Calcul

Révision du 28 décembre 2006

- Modifié Spiru-f, Spiru-e et Spirpacf pour permettre l'option isolation complète nocturne (isol = 1) sans serre, et, dans Spiru-f et Spiru-e, pour mettre à jour l'estimation des frais fixes calculés quand variable 71 = 0
- Modifié de facon mineure le Chap. Culture et les Présentations Power Point
- Corrigé une petite erreur dans le Cas 1 du programme utilitaire MILNOUR dans le chapitre Calcul

Révision du 1<sup>er</sup> Décembre 2006

Ajout au chapitre Culture/droites et chlorelles éliminées par les rotifères

Ajout au chapitre Semis des recommandations sur la concentration initiale

Révision du 23 Novembre 2006

(Après crash du disque dur principal de l'auteur le 1/11/2006, reconstitution du Manuel dans son état après le 16 Octobre).

Ajouté au chapître Calcul la façon d'éviter que le téléchargement des exe soit bloqué par les paramètres de sécurité.

Ajouté au même chapitre les principaux programmes-sources en QBasic.

Révision du 16 Octobre 2006

Petits compléments aux chapitres Consommation et Récolte

Révision du 18 septembre 2006

Ajout au chapitre "Culture", § nourriture carbonée, d'un complément sur la dose de bicarbonate de sodium optimum

Ajout de remarques dans le Chapitre "Calcul", § Prix de revient

Révision du 7 Septembre 2006

Modifications de SPIRU-F et SPIRU-E : introduction d'une variable (Main d'œuvre proportionnelle), suppression de l'actualisation des coûts, et harmonisation des deux logiciels.

Révision du 28 Août 2006

Apporté une légère correction (sans impact sur les résultats) à SPIRU-F et E

Révision du 5 août 2006

Apporté certains compléments au Chapitre "Culture"

et "Semis"

Révision du 1<sup>er</sup> juillet 2006

Modifié légèrement les recommendations finales

Révision du 6 juin 2006-06-06

Petite correction concernant le recyclage dans SPIRU-F

Révision du 1er mai 2006

Quelques améliorations sur l'emballage (chapitre Séchage) et sur la contamination par des chlorelles (chapitre Culture)

Révision du 15 avril 2006

Dans CALCUL, légère modification de SPIRU-F concernant le recyclage

Révision du 20 février 2006

Dans le chapitre MILIEU, ajouté la méthode de fabrication de sulfate de magnésium à partir de cendres

Révision du 8 février 2006

Dans le chapitre Calcul, modifié les passages concernant le recyclage (consommation d'eau et d'électricité du recyclage), et en conséquence SPIRU-F et SPIRU-E

Révision du 2 février 2006

Dans le chapitre Calcul, corrigé le lien vers Notice Spirpacf

Révision du 24 janvier 2006

Traduit SPITFIX.EXE en français

Révision du 17 janvier 2006

Dans Calcul, dans SPIRU-F on a introduit un résultat nouveau : le volume de citerne pour autonomie en eau quand on a une serre.

Révision du 12 Décembre 2005

Dans Calcul, dans SPIRU-F et SPIRU-E on a rétabli la régulation de température par aération modulable dans le cas d'isolation nuit et jour, et on a introduit l'option "opmil" qui permet de calculer le prix de revient sans milieu de culture initial. Modifié METEO en conséquence.

Révision du 29 Novembre 2005

Petites améliorations au chapitre Culture (paragraphes Droites, EPS et Epuration)

Révision du 22 Novembre 2005

Petites modifications au texte du chapitre Calcul (gaz de combustion), et aux logiciels de simulation de culture.

Révision du 10 novembre 2005

Ajout de l'option calcul automatique des frais fixes dans SPIRU-F

Révision du 8 novembre 2005

Corrigé Milnour.exe, Amélioré Spiru-f.exe et Calcul

Révision du 27 octobre 2005

Ajouté au logiciel de simulation Spiru-f la possibilité d'alimenter en CO2 de compostage (CO2 dilué)

Révision du 13 octobre 2005

Dans les Annexes, au § A13, corrigé le tableau des mélanges soude/bicarbonate de sodium

Dans le chapitre Milieu ajouté un alinéa sur ajout du phosphate après la soude

Légèrement modifié le paragraphe sur les larves dans le chapitre Culture

Révision du 23 septembre 2005

Ajouté dans le chapitre Semis l'adresse de J. Falquet

Ajouté dans les chapitres Milieu et Nourriture des précisions concernant l'usage d'urine

Ajouté dans le Chapitre Culture un complément sur l'épuration de milieux de culture usés.

Révision du 19 septembre 2005

Petits compléments au Chapitre Culture (sur eau de Javel)

Révision du 15 septembre 2005

Modification du cas 1 dans MILNOUR.exe

Révision du 12 septembre 2005

Amélioration mineure aux chapitres Culture et Calcul

Révision du 8 septembre 2005

Modifications mineures apportées aux chapitres Milieu et Nourriture

Révision du 30 août 2005

Dans Chapitre Culture, ajouté une précision concernant l'apparition d'amibes

Révision du 28 aout 2005

Dans le chapitre Culture, ajouté que les moustiques ne sont peut-être pas stérilisés par la consommation de spirulines.

Dans l'Index, corrigé le lien vers le résumé en espagnol; dans Cultivo, ajouté des liens dans le sommaire.

Révision du 19 août 2005

Dans le chapitre Culture, § Fer, ajouté la composition du Ferfol

Révision du 14 août 2005

Dans le chapitre Culture, § Agitation, ajouté qu'il est bon d'agiter la nuit.

Révision du 9 aout 2005

Dans le chapitre CALCUL mis en majuscules les noms de dossiers SPIRUL, etc.

Révision du 1er Août

Légèrement modifié dans l'Annexe Technique le test de filtration et de turbidité Révision du 27 juillet 2005

Ajouté aux chapitres Milieu, Culture et Annexes : ne pas stocker eau douce en présence de lumière.

Mise à jour de GROW (version en anglais)

Révision du 21 juillet 2005

Améliorations apportées au chapitre Culture, au sujet des chlorelles.

Révision du 14 juillet 2005

Modifications (mineures) dans Chapitre CALCUL, concernant la version Visual Basic du logiciel principal de simulation.

Corrigé une faute d'orthographe dans la Bibliographie (Puyfoulhoux)

Révision du 13 juillet 2005

Réfection d'un certain nombre de liens en vue de l'installation du Manuel sur le site des Petites Nouvelles (en raison des travaux le rendant momentanément inutilisable sur le site d'Antenna)

Révision du 30 juin 2005

Dans Chapitre Calcul ajouté le Cexph.exe aux Petits Programmes Utilitaires, et un lien vers ceux-ci.

Révision du 28 juin 2005

Dans chapitre Récolte, ajouté qu'on doit mettre la biomasse au frigo avant et après pressage

Révision du 24 juin 2005

Ajouter l'annexe technique A31 sur l'adoucissement de l'eau

Révision du 16 juin 2005

Améliorations de détail apportées au chapitre Calcul et à meteo.exe, spiru-e.exe, spiru-f.exe

Révision du 8 juin 2005

Dans le chapitre Culture, ajouté la possibilité de floculation en grumeaux verts faibles en EPS.

Révision du 6 juin 2005

Modifié le § 7.8 en ce qui concerne l'utilisation du glucose en remplacement du sucre comme apport de carbone

Eliminé un petit "bug" dans le logiciel spiru-f et spiru-e et SPIRPACF

Révision du 23/05/2005

Ajouté dans le sommaire un lien vers le résumé en espagnol

Révision du 18/03/2005

Ajouté à spiru-f et spiru-e une variable N°86 : augmentation de la température de la Terre par rapport aux conditions météo actuelles.

Adapté ces logiciels pour traiter des milieux à très basses alcalinités

Corrigé de petites erreurs dans la version Visual Basic de ces logiciels (Spirpacf)

Révision du 23/02/2005

Réintroduction de la variable "pH minimum pour récolte" (N°85) dans meteo, spiru-e et spiru-f

Révision du 22/02/2005

Correction mineure apportée à Spiru-f

Révision du 14/02/2005

Importante modification dans le chapitre Calcul : suppression du logiciel Spirpac, et intégration de la pompe à chaleur dans le logiciel normal Spiru-f (ou Spiru-e).

Cela ne change rien aux résultats, mais la marche sans pompe à chaleur exige que la variable N°79 ait la valeur 0, et la variable N°80 la valeur 45.

Révision du 4/02/2005

Corrigé les programmes de simulation (spirpacf, spirpac, spiru-f, etc), ce qui améliore un peu productivités et prix de revient dans les résultats

Révision du 25/01/2005

Corrigé Sel dans les résultats de Milnour.exe

Révision du 22/01/2005

Ajout dans Calcul et Notice Spirpacf d'une explication concernant le cumul des ombrages sur une culture de spiruline.

Révision du 6/01/2005

Dans les formules de calcul de milieu et de nourriture, ramené le P (hors Ca et Mg) de 14 à 10 mg/l et g/kg.

## **GROW YOUR OWN SPIRULINA**

#### NOTICE

This is the condensed version of a "Manual of small scale spirulina culture" written in French and distributed by Antenna Technology.

This is not one more book on spirulina. Excellent ones are available\*, dealing with such topics as :

- what is spirulina?
- what is its natural habitat?
- how did the Aztecs harvest it and eat it?
- how was it rediscovered 30 years ago?
- what nutrients, vitamins, minerals does it contain?
- what are its food-grade specifications?
- what are its numerous benefits for your health?
- how does industry manufacture and market spirulina?
- why is spirulina ecologically friendly?
- why has it such a brilliant future?

The sole purpose of this little manual is to bring my field experience on small scale spirulina production to those who would need it: the answers to the above questions are assumed to be well known.

To make the presentation shorter, easier and more accurate, I decided not to avoid using common technical terms: in case some would confuse you, look for an explanation in a chemistry college handbook.

What is called "spirulina" here actually bears the scientific name of "*Arthrospira platensis*", a cyanobacteria. But the common name "spirulina" is universally used.

\* See for instance "Earth Food Spirulina", by Robert Henrikson, published by Ronore Enterprises, U.S.A. (1994), and "Spirulina, Production & Potential", by Ripley D. Fox , Editions Edisud, France (1996), or "Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology", edited by A. Vonshak, published by Taylor & Francis (1997)

#### **CLIMATIC FACTORS**

Temperature is the most important climatic factor influencing the rate of growth of spirulina.

Below 20°C, growth is practically nil, but spirulina does not die. The optimum temperature for growth is 35°C, but above 38°C spirulina is in danger.

Growth only takes place in light (photosynthesis), but illumination 24 hours a day is not recommended. During dark periods, chemical reactions take place within spirulina, like synthesis of proteins and respiration.

Respiration decreases the mass of spirulina ("biomass"); its rate is much greater at high temperature so cool nights are better on that account, but in the morning beware that spirulina cannot stand a strong light when cold (below 15°C).

Light is an important factor but full sunlight may not be the best rate of illumination: 30% of full sun light is actually better, except that more may be required to quickly heat up the culture in the morning.

Individual spirulina filaments are destroyed by prolonged strong illumination ("photolysis"), therefore it is necessary to agitate the culture in order to minimize the time they are exposed to full sunlight.

Rain is beneficial to compensate for evaporation, but it must not be allowed to cause overflowing of the culture pond.

Wind is beneficial for agitating and aerating the culture, but it may bring dirt into it.

Artificial light and heating may be used to grow spirulina, although they are not economical. Fluorescent tubes and halogen lamps are both convenient. Lamps can illuminate and heat the culture simultaneously.

#### **PONDS**

Spirulina thrives in alkaline, brackish water. Any water-tight, open container can be used to grow spirulina, provided it will resist corrosion and be non-toxic. Its shape is immaterial, although sharp angles should be avoided to facilitate agitation and cleaning. Its depth is usually 40 cm (twice the depth of the culture itself). It can be as small as 1 m² but 5, 20 or 100 m² are more economical. Dimensions are only limited by the necessity of accessing for agitation and cleaning. The bottom should have a slight slope and a recess to facilitate cleaning and emptying. Two ponds are better than just one, for practical reasons.

The most economical ponds are made of U.V. resistant plastic film of 0.5 mm thickness or more (PVC or polyethylene), with sides supported by bricks or a wooden

structure or metal tubes. If termites are present, a layer of dry ash plus a layer of sand should be placed under the film to protect it, and of course wood should not be used.

Concrete ponds are a good, durable solution where experienced labour is available. Before starting the culture, the cement should be well cured and whitewashed.

A greenhouse over the ponds offers many advantages, provided it can be aerated and shaded. As a matter of fact, covering the ponds is necessary in many instances.

Agitation can be manual, with a broom, once every two hours. If electricity is available, aquarium pumps are practical to agitate the surface of the culture (one watt/m² is enough). "Raceway" ponds agitated by paddlewheels are standard in the industry, but somewhat outside the scope of this manual.

#### **CULTURE MEDIUM**

Spirulina can live in a wide range of compositions of water; the following is an example of a convenient analysis:

Anions	Carbonate	2800	mg/l
	Bicarbonate	720	
	Nitrate	614	
	Phosphate	80	
	Sulfate	350	
	Chloride	3030	
Cations	Sodium	4380	
	Potassium	642	
	Magnesium	10	
	Calcium	10	
	Iron	8.0	
Urea		< 50	

Total dissolved solids 12847

Density @ 20°C 1010 g/l

Alcalinity 0.105 N (moles strong base/liter)

pH @ 20°C 10.4

In addition, the solution contains traces of all micronutrients necessary to support plant life.

Such solution can be obtained by dissolving various combinations of chemicals ; here is one example convenient for many typical soft waters :

Sodium carbonate (soda ash)	5	g/l
Sodium chloride, crude	5	
Potassium nitrate	2	
Sodium bicarbonate	1	
Potassium sulfate, crystallized	1	
Urea	0.02	
Monoammonium Phosphate, crystallized	0.1	
Magnesium sulfate, crystallized, MgSO4, 7 H2O	0.2	
Lime	0.02	
Ferrous sulfate, crystallized, FeSO4, 7 H2O	0.005	

The water used should be clean or filtered to avoid foreign algae. Potable water is convenient. Water often contains enough calcium, but if it is too hard it will cause mud which is more a nuisance than a real problem. Brackish water may be advantageous but should be analysed for its contents or tested. Seawater can be used under some very special conditions, outside the scope of this short manual.

The culture medium described above is used to start new cultures. The makeup medium should best be as follows: carbonate is replaced by bicarbonate (8 g/l in total), urea is up to 0.07 g/l, and nitrate can be omitted.

Certain ions can be present in concentrations limited only by the total dissolved solids which should not be much over 25 g/l; these are: sulfate, chloride, nitrate, and sodium. Sodium or potassium nitrate can replace urea, the advantage being a large stock of nitrogen; urea is more efficient to supply nitrogen but is highly toxic at too high concentration. Spirulina can grow on either nitrate or urea alone, but using both together is advantageous.

Phosphate, magnesium and calcium cannot be increased much without precipitating magnesium or calcium phosphate, possibly leading to imbalances in the solution.

Potassium concentration can be increased at will, provided it does not become more than five times the sodium concentration. This makes it possible to use potash extracted from wood ash to replace sodium carbonate/bicarbonate should these not be available (let the potash solution absorb CO2 from the air until its pH has come down to 10.5 before using it).

If fertilizer grade chemicals are used, they should be of the "soluble" or "crystallized" type, not of the "slow release", granulated type.

Micronutrients traces contained in the water and in the chemicals are sufficient to support the initial growth.

In case of necessity ("survival" type situations), nitrogen, phosphate, sulfate, sodium, potassium and magnesium can all be brought by urine (from persons or animals in good health, not consuming drugs) at 5 ml/l and iron by a saturated solution of iron in vinegar (use about 0.1 ml/l).

Solutions of iron should preferably be introduced very slowly and under agitation into the medium. Dripping is best.

#### **SEEDING**

Choose a spirulina strain containing a high proportion of coiled filaments (less than 25 % straight filaments, and if available 0 %), easy to harvest, and containing at least 1 % of gamma-linolenic acid (GLA) sed on dry weight.

Concentrated spirulina seed culture can be obtained either from the floating layer of an unagitated culture, or by rediluting a freshly filtered biomass (beware of lumps). A concentration of up to 3 g spirulina (dry) per liter is permissible if storage and transportation last less than a week's time, and provided the seed culture be aerated at least two times a day. If aeration can be continuous, the concentration may be up to 10 g/l (weights of spirulina always refer to contained dry matter).

It is advisable to maintain the growing culture at a fairly high concentration in spirulina after each dilution with culture medium, about 0.3 g/l: the "Secchi disk" reading (see Annex 1) should not be above 5 cm, i.e. the color of the culture should stay clearly green (otherwise shading is mandatory). The rate of growth is about 30 % /day when light and temperature are adequate and the make-up culture medium is based on bicarbonate (without carbonate). As the growth is proportional to the area of the culture exposed to light, it is recommended to maximize this area at all times (i.e. use the minimum feasible depth during the expanding area period, generally 5 to 10 cm).

When the final area and depth (10 to 20 cm) are reached in the pond, let the spirulina concentration rise to about 0.5 g/l (Secchi disk at about 2 cm) before harvesting.

#### **HARVESTING**

When the spirulina is in good condition, separating it from the water ("harvesting") is an easy operation, but when it gets too old and "sticky" harvesting may become a nightmare ( see § "Taking care").

The best time for harvesting is early morning for various reasons:

- the cool temperature makes the work easier,
- more sunshine hours will be available to dry the product,
- the % proteins in the spirulina is highest in the morning.

There are basically two steps in harvesting:

- filtration to obtain a "biomass" containing about 10 % dry matter (1 liter = 100 g dry) and 50 % residual culture medium,
- removal of the residual culture medium to obtain the "fresh spirulina biomass", ready to be consumed or dried, containing about 20 % dry matter and practically no residual culture medium.

Filtration is simply accomplished by passing the culture through a fine weave cloth, using gravity as the driving force. Synthetic fiber cloth (especially polyamide or polyester) with a mesh size of about 30 to 50 microns is the preferred filtering medium. Supporting the filtration cloth by a net will accelerate somewhat the filtration and protect the cloth against rupturing, but a simple bag made from the cloth works well also.

The filter can be installed above the pond to directly recycle the filtrate.

The culture to be harvested should be passed through a sieve (mesh size about 200  $\mu$ ) to remove any foreign matter such as insects, larvae, leaves and lumps of polysaccharide or mud.

When the spirulina floats, which is the normal case without agitation, it is efficient to scoop out the "cream", using a straight edge pail. Harvesting the floating layer (generally richer in spiralled spirulina) will tend to increase the % straight spirulina in the culture. Straight spirulina is more difficult to harvest. So actually it is not recommended to harvest the floating layer when both straight and spiralled spirulina are present.

The filtration is accelerated by gently moving or scraping the filter cloth. When most of the water has filtered through, the biomass will often agglomerate into a "ball" under the motion, leaving the cloth clean (this desirable condition happens mostly when the biomass is richer in spiralled forms and the culture medium is clean). Otherwise it may be necessary to scrape it out from the cloth.

The final dewatering is accomplished by pressing the biomass enclosed in a piece of filtration cloth plus a strong cotton cloth, either by hand or in any kind of press. The simplest is to apply pressure (0.15 kg/cm² is enough) by putting a heavy stone on the bag containing the biomass. The "juice" that is expelled comes out first colorless, later it turns green and the operation must then be discontinued otherwise too much product will be lost. For the usual thickness of cake (about one inch after pressing), the pressing time is about 15 minutes. Practically all the interstitial water (culture medium) is removed, and some rinsing may be effected by the internal juices from ruptured cells. The pH of the well pressed biomass is near 7 (neutrality).

This pressing operation effects a more efficient separation of the residual culture medium than washing the biomass with its weight of water on the filter. Washing with fresh water may cause rupture of the cell wall of the spirulina due to osmotic shock, leading to loss of valuable products; it may also introduce germs contained in the wash water. Washed biomass is a lot more prone to fermentation

than pressed biomass. Pressed biomass contains twice as much dry matter as unpressed biomass, which reduces the drying time.

When the biomass is too "sticky", for instance 100 % straight filaments, it may not be possible to dewater it: in such case, it must be washed.

#### FEEDING THE CULTURE

The nutrients extracted from the culture medium by the harvested biomass should be replaced to maintain the fertility of the culture medium.

The main nutrient is carbon, which is spontaneously absorbed by the medium from the air, as carbon dioxide (CO2), whenever the pH of the medium is above 10. However the air contains so little CO2 that this absorption is a slow process, corresponding to a maximum productivity of 4 g spirulina/day/ $m^2$ . This maximum rate is reached at or above pH = 10.5. Extra CO2 can be introduced to increase the productivity, either pure CO2 gas (from fermentation or from a cylinder). The gas is bubbled into the medium, under a piece of floating plastic film (about 4 % of the total area of the pond).

Another popular, although usually costly, means of feeding carbon is bicarbonate. Adding bicarbonate is an easy and efficient way of reducing the pH, but it increases the salinity; to maintain the salinity, it is mandatory to drain part of the culture medium from time to time and replace it by new medium rich in bicarbonate. Disposal of the drained medium may be an environmental problem and the cost may of the chemicals consumed may be uneconomical.

The amount of gas or bicarbonate to be fed is adjusted so as to control the pH at around 10.4. A pH lower than 10.2 may cause an overproduction of undesirable, but not dangerous, exopolysacharide (EPS). A good practical dose of carbon feed is the equivalent of 40 % of the spirulina produced (i.e. about 0.8 kg of CO2 per kg of dry spirulina harvested).

Apart from carbon, spirulina requires the usual major biological nutrients: N, P, K, S, Mg, Ca, Fe, plus a number of micronutrients. In many cases, the micronutrients and the calcium need not be fed to the culture, being supplied as natural impurities contained in the make-up water and the chemicals used as food for the spirulina. In some locations, the water contains a large excess of calcium, magnesium or iron, that may become a nuisance by producing abundant mud.

The major nutrients can be supplied in various ways, preferably in a soluble form, but even insoluble materials will slowly be dissolved as the corresponding ions are consumed by the spirulina in the medium. Availability, quality and cost are the main criterions for selecting the sources of nutrients, but their content in valuable micronutrients may also affect the choice.

If fertilizer grade chemicals are used, they should be of the "soluble" or "crystallized" type, not of the "slow release", granulated type. Beware of the contents

in "heavy metals" (mercury, cadmium, lead and antimony), as the spirulina readily absorbs these and strict specifications must be met.

Natural nitrate from Chile, where available, is a good source of nitrogen, not only on the basis of its low cost but also because it contains many valuable nutrients apart from nitrogen. But very generally the cheapest source of nitrogen is urea. Urea, made up of ammonia and CO2, is an excellent nutrient for spirulina but its concentration in the medium must be kept low (below about 60 mg/liter. Excess urea is

converted either to nitrates or to ammonia in the medium. A faint smell of ammonia is a sign that there is an excess of nitrogen, not necessarily harmful; a strong odour however indicates an overdose.

Here is a feed formula convenient in most locations, <u>per kg of harvested spirulina</u> (dry product) :

Urea	300 g	
Monoammonium phosphate	50 g	
Potassium sulfate	30 g	
(or 40 g if no potassium nitrate is used in the culture)		
Magnesium sulfate*	30 g	
Lime	10 g	
Iron sulfate <sup>*</sup>	2.5 g	
Micronutrients solution**	5 ml	

<sup>\*</sup> as the usual commercial product, cristallised with 7 molecules of water.

Concentrated pure phosphoric acid may replace the phosphate.

In case of necessity ("survival" type situations), all major nutrients and micronutrients except iron can be supplied by urine (from persons or animals in good health, not consuming drugs) at a dose of about 15 to 20 liters/ kg spirulina. Iron can be supplied by a saturated solution of iron in vinegar (use about 100 ml/kg) plus some lemon juice.

Ferilizers other than urea can be fed every month or so, but urea (or urine) has to be fed daily, based on the average production expected.

<sup>\*\*</sup> supplied by Antenna Technology, Geneva, upon request (the use of this solution is optional; it is useful to make the biomass easier to harvest and also to reduce the need for renewing the culture medium).

#### **TAKING CARE OF THE CULTURE**

Apart from harvesting and feeding, a spirulina culture requires some attention in order to be kept in good condition.

Agitation is a requisite. Continuous agitation however is not required.

One third of full sun will saturate the photosynthetic capacity of spirulina, but shading is not required except to reduce the consumption of water (evaporation) or the temperature (< 38°C) or the pH (< 11.3). The temperature will practically never be too high, but the pH may soon become too high if insufficient carbon is supplied.

The depth of culture must be kept between 10 and 20 cm. Evaporation must be compensated for by adding water. Rains must be compensated for either by evaporation or by draining part of the medium (in the latter case, add the chemicals corresponding to the volume of medium drained).

Accumulation of mud may cause some to float due to anaerobic fermentation gases, and this will disturb the harvesting process. Therefore it is recommended to agitate the mud layer with a broom from time to time. If too much mud accumulates at the bottom of the pond, it can be removed by pumping or siphoning (preferably while the spirulina is floating, in order to reduce the loss). Add new culture medium to replace the volume removed. Of course another way to remove the mud is to provisionally transfer the culture into another pond and clean the bottom.

In large industrial spirulina farms, continuous monitoring of the elements contained in the culture medium makes the exact make-up of individual micronutrient possible. But this is too costly for small scale operators, who then have to rely on renewing the culture medium or on the addition of minor amounts of a concentrated solution of micronutrients as mentioned above.

Excessive production of exopolysaccharide (EPS) by the spirulina or its too slow biodegradation will cause "stickiness" of the biomass and/or a flocculation of spirulina into undesirable aggregates. To control this, maintain higher pH, nitrogen and iron contents in the culture medium. The pH should be above 10, preferably above 10.3. Partial or total renewal of the culture medium also helps remedy the "stickiness" of the biomass.

Excessive turbidity of the filtrate may be reduced by slowing down the growth of spirulina and/or maintaining agitation during the night. This applies to the organic mud and EPS also. The culture is an ecosystem inside which various microorganisms (useful bacteria and zooplankton) live in symbiosis, resulting in a continuous, but slow, cleaning effect of the medium. If pollutants are produced more rapidly than this biological cleansing system can absorb, renewal of the medium will be necessary to keep it clean. Slowing down the growth may be obtained by shading or by reducing the rate of harvesting.

When stressed by a pH or salinity sudden variation, for instance by a heavy rain (more than 10% of the culture volume), the spirulina may sink to the bottom of the pond, where they will be in great danger of dying from suffocation. In order to facilitate their recovery, agitate the bottom often to give them more chance to disentangle from the mud.

The culture may become colonized by predators living on spirulina, like larvae of mosquitoes and Ephydra flies, or amoebas. In our experience these invaders cause no other trouble than reducing somewhat the productivity. Often they can be controlled by increased salinity, pH or temperature, or they disapear by themselves after a few weeks.

If the concentration of spirulina is too low, the culture may be invaded by chlorella (a unicellular, edible alga). Fortunately, chlorella pass through the filter during harvesting: so you can harvest all the spirulina, recover the wet biomass, wash it with some new culture medium and use it to restart a new tank; The contaminated medium can either be discarded or sterilised. The same procedure should be applicable to diatoms.

Toxic algae like anabaena, anabaenopsis arnoldii and microcystis do not grow in a well tended spirulina culture, but for safety's sake it is recommended to have the culture checked by a microscopic examination at least once a year. A culture of young artemias can be used to check the absence of toxic algae: boil a little of the spirulina culture to be checked (10 % of the artemias culture) during one minute, cool it and mix it with the artemias culture: observe the small animals; if they retain their vitality for at least 6 hours, there is no toxic algae. Artemias eggs are sold by aquariophilic stores. The culture sample should be boiled one minute

Usual pathogenic bacteria do not survive the high pH (> 9.7) of a spirulina culture in production; however a microbiological assay of the product should be made also at least once a year. Contaminations most generally occur during or after harvesting.

The color of the culture should be deep green. If it turns yellowish, this may be due to either a lack of nitrogen or an excess of light (photolysis) or of ammonia (excess of urea). In the latter two cases recovery is generally possible within two weeks while resting the culture under shading.

#### STORING THE PRODUCT

There is no question that freshly harvested, pressed biomass is superior to any other form of spirulina. However it will not keep more than a few days in the refrigerator, and no more than a few hours at room temperature.

Adding 10 % salt is a way to extend these keeping times up to several months, but the appearance and taste of the product change : the blue pigment (phycocyanin)

is liberated, the product becomes fluid and the taste is somewhat like anchovy's paste.

Freezing is a convenient way to keep fresh spirulina for a long time. It also liberates the blue pigment, but it does not alter the taste.

Drying is the only commercial way to store and distribute spirulina. If suitably packaged under vacuum in aluminised heat sealed plastic bags, dry spirulina is considered good for consumption up to five years. But drying is an expensive process and it generally conveys the product a different and possibly unpleasant taste and odour, especially if the product is spray dried at high temperature as is the case in large scale plants.

#### **DRYING**

The industrial type of spirulina dryer is the spray drier which flash dries fine droplets at very high temperature and yields an extremely fine powder of low apparent density. This type is outside the reach of artisan producers. So is freeze drying, the best way of drying but far too expensive and complicated.

Sun drying is the most popular among small producers, but requires a few precautions. Direct sun drying must be very quick, otherwise the chlorophyll will be destroyed and the dry product will appear bluish.

Whatever the source of heat, the biomass to be dried must be thin enough to dry before it starts fermenting. Basically two types of shapes are used: thin layers of rather fluid biomass laid on a plastic film, and rods ("spaghetti") laid on a perforated tray. In the former case the air flows horizontally over the film, while in the latter one it flows either horizontally or vertically through the tray. The rod shape is theoretically better as evaporation can take place all around; rods are obtained by extrusion to a diameter of 1 to 2 mm. But rods must be sturdy enough to maintain their shape, so this type of drying is restricted to biomasses that can be dewatered by pressing into a paste of firm consistency.

Warm, dry air passed over or through the biomass to be dried must have a high velocity at the beginning of the drying process. Later on in the process the velocity of the air is less important than its dryness (therefore it is usual to end up with air heated at 65°C). The total duration of the drying should not exceed a few hours, preferably 2 hours.

During the drying process as well as afterwards the product must be protected against contaminations from dust and insects and should not be touched by hands.

Drying temperature should be limited to 68°C, and drying time to 7 hours.

Incipient fermentation during drying can be detected by smelling during the drying process as well as afterwards. However it is customary that a rather strong smell evolves from the biomass at the very beginning of the drying.

The dry chips or rods are usually converted to powder by grinding in order to increase their apparent density. The best storage is in heat sealed, aluminised plastic bags.

#### **CONSUMPTION**

Those persons who cannot stand the taste and odour of spirulina most probably were once exposed to a low quality product. Good quality fresh spirulina is so bland it can replace butter on toasts and can enrich almost any dish; cold drinks can be prepared by mixing it with fruit juices. Fresh spirulina is a paste easily mixed, diluted, extruded, etc.

There are literally thousands of possible recipes making use of spirulina either fresh, frozen or dry, raw or cooked.

Above 70°C the gorgeous green color often turns brown in the presence of water. So you can choose your preferred color for soups and sauces.

#### **ANNEX**

# A1) MEASURING THE CONCENTRATION IN SPIRULINA WITH THE SECCHI DISK

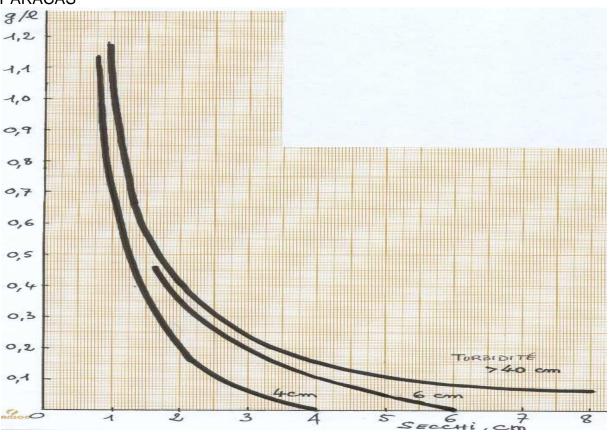
The "Secchi disk" is a self-made instrument: a piece of white plastic fixed at the tip of a graduated rod. Dip it vertically into the spirulina culture until you just cannot see the white piece; the reading in centimeters gives an approximate value of the concentration. If the medium itself (the filtrate) is turbid, use the appropriate curve, after measuring the turbidity of the filtrate using a black Secchi disk, expressed in cm in the same way as the concentration.

As the reading depends on the eye of the operator, every one should make his own graph, based on absolute measurements of the concentration (by filtering a given amount, drying in the oven and weighing).

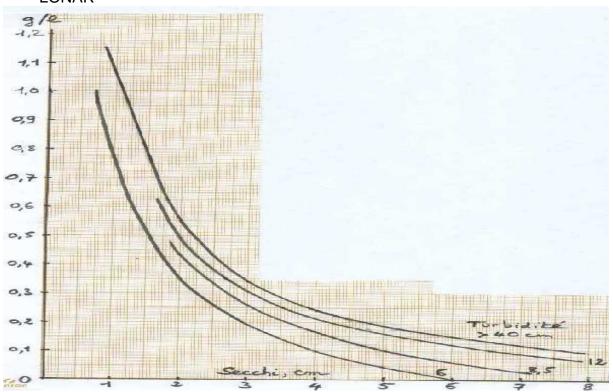
The reading also depends on the shape of the filaments.

The following graphs were established by the author for the Lonar (coiled) and for the Paracas (loosely coiled, almost straight) strains. They can be used as approximations.









#### **A2) MEASURING THE SALINITY OF THE CULTURE MEDIUM**

Use a densitometer calibrated for densities above 1.

Temperature correction:

$$D = DT + 0.000325 \times (T - 20)$$

Where D = density at 20 °C, DT = density at T °C, expressed in kg/liter Salinity SAL is calculated from D by the formulas :

If D > 1.0155, SAL =  $1275 \times (D - 1) - 0.75$ , g/liter Otherwise, SAL =  $1087 \times (D - 0.998)$ 

#### A3) MEASURING THE ALCALINITY OF THE MEDIUM (ALCALIMETRY)

Titrate the medium using normal hydrochloric acid (concentrated acid diluted 10 times with water). Use pH 4 as the end point.

Alcalinity (moles of strong base/liter) is the ratio of the volume of acid used to the volume of the sample of medium.

#### **A4) MEASURING THE PH**

The pH meter should be calibrated at least once a week. If standard calibration solutions are not available, self-made solutions can be made for calibration as follows (pH at 25°C):

- pH 11.6 : 10.6 g sodium carbonate per liter water
- pH 9.9 : 5.5 g sodium bicarbonate + 1.4 g caustic soda per liter water, or : 4.2 g sodium bicarbonate + 5.3 g sodium carbonate per liter water ; maintain in contact with the atmosphere and make up for evaporated water.
- <u>pH 7</u>: 5.8 g monoammonium phosphate + 11 g sodium bicarbonate per liter of water; maintain in a closed bottle.
  - pH 2.8 : standard vinegar (6 % acetic acid, density 1.01).

Temperature correction on pH:

pH at  $25^{\circ}$ C = pH at  $T^{\circ}$ C + 0.00625 x (T - 25)

#### **A5) COMPARING SPIRULINA SAMPLES**

Protein, iron, gamma-linolenic acid, heavy metals contents and the microbiological analysis can only be performed by a competent laboratory, but a few home-made tests can give an idea of the quality of a spirulina sample by comparing with a reference product.

Examination of color, odor and taste may reveal significant differences between samples. The green color should tend more towards the blue than the yellow.

The "pH test" reveals the degree of removal of the culture medium from the biomass. On fresh spirulina simply measure the pH: if near 7, the biomass is pure. For dry spirulina powder, mix a 4% suspension in water and measure the pH: the initial pH should be near 7 (for many commercial products it is near 9 or even 10), and after 12 hours it usually falls down to well below 6. For biomasses that were washed with acidified water, the initial pH may be acidic (< 7).

To assay the blue pigment phycocyanin content proceed as for the pH test on dry samples, mixing several times the suspension. After 12 hours, take a one drop sample of the decanted solution and put it on a filter paper (for instance the "Mellita" filter paper for coffee making) maintained horizontal. The amount of blue color in the stain is proportional to the concentration of phycocyanin in the sample. Some spirulina samples require to be heated to 70°C before the test for the blue pigment to be fully released into the solution.

To assay the carotenoids content, mix the dry powdered sample with twice its weight of acetone (or of 90 % ethanol) in a closed flask, wait 15 minutes, and put one drop of the decanted solution on filter paper. The intensity of the brown-yellow color of the stain is proportional to the concentration of carotenoids (and hence of beta-carotene) in the sample. Old samples stored without precautions contain practically no carotenoïds.

#### A6) HARVESTING AND DRYING SPIRULINA

Filtration is done on a 30 µ mesh cloth.

When most of the water has filtered through, the biomass will agglomerate into a "ball" under motion of the filtering cloth, leaving the cloth clean (this desirable condition happens when the biomass is richer in spiralled forms and the culture

medium is clean). At this stage the biomass contains 10 % dry matter and it has a



soft consistency; it will not stick to plastic materials but glide on it.

Final dewatering of the biomass is accomplished by pressing the biomass enclosed in a piece of filtration cloth, either by hand or in any kind of press. The simplest is to apply pressure (0.15 kg/cm² is enough) by putting a heavy stone on the bag containing the biomass. The "juice" that is expelled comes out clear and colorless, and the operation must then be discontinued when no more liquid drops out. For the usual thickness of cake (about one inch after pressing), the pressing time is about 15 minutes. Practically all the interstitial water (culture medium) is removed. The pH of the pressed biomass is near 8 and may even be brought below due to breakage of some spirulina cells, but it is not advisable to bring it too low.



This pressing operation effects a more efficient separation of the residual culture medium than washing the biomass.. Washing with fresh water may cause rupture of the cell wall of the spirulina due to osmotic shock, leading to loss of valuable products; it may also introduce germs contained in the wash water.

Pressed biomass contains twice as much dry matter as unpressed biomass, which reduces the drying time. It has a firm consistency (can be cut by a knife like cheese). It can be eaten as is.

The biomass to be dried must be thin enough to dry before it starts fermenting. It is extruded into fine rods ("spaghetti") of a diameter of 1 to 2 mm onto a plastic perforated tray (or nylon mosquito net). The rods must be sturdy enough to maintain their shape, so this type of drying is restricted to biomasses that can be dewatered by

pressing into a firm consistency. In India the "indiappam makker" kitchen instrument can be used for extruding (the wooden type is preferred to the aluminium one).



During the drying process as well as afterwards the product must be protected against contaminations from dust and insects and should not be touched by hands.

Drying temperature should be limited to 68°C, and drying time to 7 hours. With good ventilation and low charge (1 kg fresh rods/m² of tray) the drying time may be reduced to 2 hours. The final % water should be less than 9. The dry product detaches itself easily from the tray.

Incipient fermentation during drying can be detected by smelling during the drying process as well as afterwards.

The dry rods are usually converted to powder by grinding in order to increase their apparent density. The best storage is under vacuum in heat sealed, aluminized plastic bags.

#### A7) A SIMULATION MODEL FOR THE CULTURE OF SPIRULINA

[This section deals with an old version of the simulation model which is no longer supported. However iti is left here as an illustration. The present model is described in the French version only.]

#### <u>Instructions</u> for use of the simulation model (**English** version)

The models presented here are freely available for non-commercial uses. They can be run on any PC with DOS. Create a new folder on your local disk (C) and name it SPIRUL. In SPIRUL create 4 subfolders and name them SITES, PERSO, IMPRIM and EXE. Download <u>BSI.EXE</u>, <u>METEO.EXE</u> into the folder named EXE and run <u>METEO.EXE</u> once before using the models. The main model is <u>SPIRU-E.EXE</u>. The models can be downloaded into EXE or they can be run directly from their link (in this case, to the question input path?, answer C:/SPIRUL/EXE).

If you ask for a printout of the results, go to the file SPIRU-E.DOC automatically generated in the folder IMPRIM, and print it. To print graphs use Print Screen.

Other models can be run the same way: <u>SPITFIX.EXE</u> for simulating laboratory cultures at constant temperature under constant light, and <u>PRIXSPIR.EXE</u> (French) for the calculation of spirulina cost prices.]

[Part of the following reproduces a paper given at the First ALGAL Technology Symposium, Ege University, Izmir, Turkey, October 24-26, 2001]

# A PRACTICAL SIMULATION MODEL FOR SPIRULINA PRODUCTION JOURDAN Jean-Paul, Le Castanet, 30140-Mialet, France

#### **Abstract**

A model was written to simulate the operation of a spirulina (*Arthrospira platensis*) culture under a greenhouse or in the open air. The rate of photosynthesis is assumed to be directly proportional to five functions when biomass concentration is above 0.1 g/l: photosynthesis = k x f(light) x f(temperature) x f(pH) x f(stirring) x f(salinity). The rate of respiration is assumed to be a function of the temperature. The solar illumination is calculated from the sun's position and from local meteorological data; an artificial lighting may be provided. The culture temperature is calculated from a thermal balance and the pH from a CO2 balance around the tank. The calculations are carried out for each hour for a period of up to 600 days on end. The results include a graph of the daily production and a cost price analysis. In order to optimize the production about 80 technical parameters can be varied at will, including the temperature control means (inflatable double plastic roof, air circulation, shading, night cover, artificial heating). Various fuels are available either for heating or as a source of CO2. Makeup water may be saline and/or alkaline. Purified culture medium may be recycled at a lower pH to increase the growth.

The model appears to correctly predict the operation of a spirulina culture. It is useful to predict trends, optimize operating conditions, make technical and economic analyses, and as a tutorial aid.

**Keywords**: *Arthrospira platensis*, culture, simulation, model.

#### INTRODUCTION

The software <u>SPIRU-E.EXE</u> containing the mathematical model presented here is freely available for non-commercial uses. The program itself contains all necessary information for use.

The model is based on data from the literature plus data obtained by the author in the course of ten years of experiments with spirulina (<u>Arthrospira platensis</u>) culture. It makes use of basic equations from the solar energy and chemical engineering fields. It applies to any spirulina culture in an open air tank or under a greenhouse, in any climate. It also applies to the case of cultures flowing on inclined planes.

In addition to technical aspects, the model also calculates a simplified cost price for the product.

#### MATERIALS AND METHOD

Starting from a given set of initial conditions, the growth of spirulina is calculated hourly for the desired duration of the culture (up to 18 months), as a batch culture or rather as a semibatch culture because of harvesting. The basis is one square meter of illuminated tank area. Temperature and pH of the culture are obtained by heat and CO2 balances around the tank and are the basis for the calculation of growth. The main hypothesis on which the model is based is that the rate of photosynthesis is assumed to be directly proportional to five functions when the biomass concentration is above 0.1 g/l:

#### photosynthesis = k x f(light) x f(temperature) x f(pH) x f(salinity) x f(stirring)

with the proportinality factor k chosen to best fit experimental results. This hypothesis may not be scientifically justified, but it makes the calculation much simpler ans gives acceptable results. This equation assumes that photosynthesis is not limited by nutrients other than bicarbonates, and that it is independant of spirulina concentration (which is largely true as the biomass concentration is maintained above 0.15 g/liter). The functions of light, temperature, pH and salinity are based on Zarrouk 1966, adapted to better fit experimental results when necessary. Figs. 1 to 5 (Fig1 , Fig2 , Fig4 , Fig5) show these functions as used in the model. The function of the stirring rate is largely hypothetical (note : stirring and agitation will be synonymous in this paper).

For biomass concentrations below 0.1 g/l the photosynthesis is exponential and is calculated by multiplying the above equation by the factor (concentration/.01).

The net growth is calculated as the difference between photosynthesis and respiration. The assumed influence of temperature on the rate of respiration is illustrated in <u>Fig6</u>, based on Tomaselli *et al.*, 1987 and Cornet 1992, for homogeneous cultures maintained in contact with air.

Ambiant air temperature and solar radiation are calculated hourly from meteorological data, latitude and altitude of the site, with formulas used commonly in the solar energy field. The average percent cloudiness is assumed to be concentrated each month in three series of days evenly distributed within the month, which are the rainy days of the month. Dew point and wind velocity are assumed to be constant within each month.

Greenhouses used may be equipped with various devices to control their internal climates: inflatable double plastic roof, adjustable ventilation, adjustable shading, fixed shading, infrared reflectors (night screen) and night insulation. Various additional options for greenhouses in cold climates are available including heating by fuel combustion, night insulation and artificial lighting.

Adjustable and/or fixed shading and night screen may also be mounted on open air tanks.

Harvesting is done every day (except on 0 to 3 days on end without harvest per week) at a given time of the day, reducing the spirulina concentration down to a given fixed value, but is limited by the harvesting capacity. There is no harvest as long as the pH is below a limit (generally 9.6) in order to minimize the pathogenic germs. At the end of the culture period a final harvest reduces the concentration down to the initial value. The average productivity is based on the total duration of the culture period from inoculation to restarting a new culture, including the idle days.

The pH of the culture is controlled by daily feeding of CO2 or CO2-evolving compounds (bicarbonate, sugar) or (for greenhouses) CO2-containing combustion gases. The CO2 contributed by the urea and by the ventilation air is taken into account in the carbon balance. The absorption coefficient of CO2 from the air into the culture medium was experimentally determined as 20 gmoles/hr/m²/atm; this figure may be changed (in the following examples a figure of 18 was taken). The vapor pressure of CO2 over the medium is calculated using the formula given in Kohl and Riesenfeld 1960. The resulting rate of CO2 absorption from the air is illustrated in Fig7. The experimentally determined graph in Fig8 is used to relate the amount of CO2 contained in the medium to the pH of the medium. The CO2 consumption assumed in the examples given below is 1.8 gram per gram of spirulina grown, but the model allows it to be adjusted to take into account variations in the exopolysaccharide and other byproducts according to the strain and the culture conditions.

The tank level is allowed to fluctuate between a minimum and a maximum value, and is controlled either by draining part of the medium or by adding water (plus the salts needed to maintain the quality of the medium) depending on the needs. The salinity and alcalinity of the make-up water are taken into account, but its hardness is neglected. The salinity and the basicity of the medium are controlled below given maximum values by replacing part of the medium by water (plus the required salts).

Purified, low pH culture medium may be recycled with no change in basicity, salinity, level nor temperature in the tank..

The cost price calculated by the model is based on the following formulas for chemicals usages:

	Medium,	Production,	
	g/liter*	<u>g/kg**</u>	
Monoammonium phosphate	0.08	50	
Dipotassium sulfate	1.00	40	
Epsom salt	0.16	30	
Urea	0.02	300	

(\*plus the required sodium bicarbonate, carbonate and chloride corresponding to the initial basicity, pH and salinity)

(\*\*plus the required amounts of C containing compounds).

The cost price also includes an adjustable fixed costs contribution.

The model does not take into account the cost of treatment of the spent culture medium, but it allows recycling of the treated medium.

## **RESULTS**

The site of Izmir, Turkey was chosen to give a series of examples of results obtained using the model with 6 harvesting days per week. To facilitate comparison of the various cases, the same set of data were used in all cases, except the parameters being varied. A greenhouse of the simplest type is used in all cases, with no inflatable double roof, no shading, no night insulation nor night screen, but with adjustable ventilation. The standard duration chosen for the culture is one year. Table 1 and 2 (<u>Table1</u>, <u>Table2</u>) show the printout of the standard data used.

The daily results of each simulation come out both as a graph (Fig9) and as a table (not shown here), while average results over the period of culture come out as a table (Table 3).

The search for the minimum cost price or the maximum production is effected by varying parameters.

Fig10 gives the relationship between the bicarbonate consumption (used as the sole pH controlling agent) and the productivity when using the simplest type of greenhouse (standard case for the examples given here) and when using a fully equipped, modern greenhouse. At low pH the simplest greenhouse is 25 % better than without any greenhouse.

<u>Fig11</u> show typical results obtained by varying the pH control value while using bicarbonate as the sole pH controlling agent and <u>Fig12</u> shows the same using liquid CO2. The optimum pH obviously depends on the cost of the carbon source.

<u>Fig13</u> shows the negative influence of high biomass concentrations on the productivity, due to the effect of respiration.

<u>Fig14</u> shows the negative influence of a high depth of culture on the productivity, due both to the reduction of the maximum temperature and to higher respiration.

Fig15 shows the minute influence the air circulation rate has on the productivity. When an artificial carbon source is used, the influence is negative due to lower temperatures. Without an artificial carbon source, it becomes positive due to more CO2 available from the air, but it remains negligible.

Fig16 shows the influence of the salinity of the make-up water on the productivity.

<u>Fig17</u> gives an example where propane fuel is the sole artificial carbon source. The cost price can be quite low provided the air circulation rate is kept minimal.

Another use of the model is to evaluate the economic penalty due to shorter periods between changing the culture medium. For three changes per year instead of one, the penalty comes out to be 4 % on productivity and only 1 % on cost price in the example given here. So, as a new culture is easier to harvest, it is recommendable to renew the medium several times a year.

## **DISCUSSION**

In spite of taking into account around eighty parameters, the model is far from comprehending the totality of the factors, notably biological, that influence the growth and quality of the spirulina produced in artificial conditions.

Although results from the model fit actual data generally well, the model has yet to be fully validated. It would be extremely desirable to compare a number of calculated and observed results, but for such comparisons to be valid, the data used should closely match the experimental conditions. Such a close match actually is beyond the scope of this work, but could constitute interesting thesis subjects for students. It is suggested that comparisons with actual results be communicated to the author for further validation or modification of the model. Laboratory studies are often conducted as batch cultures under constant illumination twelve hours a day. A variant of the model was developed to facilitate validation from such laboratory studies.

As it is, this model can be useful to predict trends, optimize operating conditions, make technical and economic analyses, and as a teachingl aid.

### **REFERENCES**

Cornet J.F. 1992. Kinetic and energetic study of a photobioreactor (in French), Thesis, University of Paris-Orsay

Kohl A.L. and Riesenfeld F.C. 1960. Gas Purification, McGraw-Hill Book Co.

Tomaselli L., Giovanetti L., Pushparaj B. and Torzillo G. 1987. Biotechnologies for the production of spirulina (in Italian), IPRA, Monografia 17.

Zarrouk C. 1966. Contribution to the study of a cyanophycea: influence of various physical and chemical factors on the growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* (in French), Thesis, University of Paris

### **TABLES AND FIGURES**

SIMULATION OF PRODUCTION OF SPIRULINA BY PROGRAMM SPIRU-E IZMIR Date: 10-11-2001

#### HYPOTHESES

Notice: if variables were modified during the simulation, these modifications are reproduced here

```
1. bicar added = 150
                          2. CO2 added= 0
                                                     3. \text{ sugar added} = 0
4. depth = 10
                          5. thermal equiv. = 5
                                                     6. days = 360
7. no carbon days = 5
                          8. inter days = 5
                                                     9. pH control = 10.2
10. initial c = 1
                          11. harvest cap. = 20
                                                     12. wind coeff. = 1
13. shad. coeff. = .3
                          14. night cover = 0
                                                     15. \max temp. = 41
                          17. \max b = .2
16. initial b = .1
                                                     18. fixed salts = 5
19. \max. sal. = 20
                          20. water tds = 0
                                                     21. ventilation = 2
22. vent. coeff = 1
                          23. fuel type = 2
                                                     24. biogas % CO2 = 0
25. fuel flow rate = 0
                                                     27. heat used = 100
                          26. electr. gener. = 0
                                                     30. insul. coeff = 1
28. \text{ gases used} = 100
                          29. insulation = 0
31. double roof = 0
                          32. lamps = 0
                                                     33. lamps control = 0
34. \text{ lamps heat} = 0
                          35. % drainage = 10
                                                     36. initial day = 15
37. initial mo. = 1
                          38. CO2 outside = 340
                                                     39. \text{ yield} = 90
                          41. harv. time = 8
40. \text{ spir. conc.} = .3
                                                     42. stirring rate = 20
43. adjust. coeff = 1
                          44. kg C02/kg spi = 1.8
                                                     45. interest rate = 0
46. azimuth = 0
                          47. \text{ slope} = 0
                                                     48. altitude = 120
49. latitude = 39.2
                          50. fixed shad. = 0
                                                     51. Reference = IZMIR
74. b (eau) = 0
                          75. pH (eau) = 0
                                                     76. klux max @ 10gC = 30
Prices, $/kg (except otherwise mentioned)
60. carbonate = .8
                          61. bicarbonate = .8
                                                     62. \text{ salt (NaCl)} = .17
                          64. liquid CO2 = 1
63. urea = .17
                                                     65. \text{ sugar} = .7
66. \text{ sulfate (Mg)} = 3
                          67. sulfate (K) = 3
                                                     68. phosphate = 3
                          70. kWh = .13
                                                     71. fixed costs = 15
69. \text{ water} = .1
ı
```

# Table 1 Example of input data

[Note: in this paper, the coefficient of absorption of CO2, ka, was assumed to be 18 gmole/hour/m²/atm]

WHEATHER DATA for IZMIR (Average monthly values)

Month	Temp	Temp	Dew	8	Wind	Haze	Rain
	max	min	point	cloud			
1	11.1	3.3	3.3	18.7	2	. 26	87
2	12.2	4.4	4.4	20.7	2	. 26	72
3	15	6.1	6.1	15.3	2	. 26	63
4	20.5	9.4	9.4	8.8	2	. 26	38
5	25.5	13.3	13.3	8.5	2	. 26	29
6	30.5	17.7	17.7	3.3	2	. 26	12
7	33.3	20	20	0	2	. 26	0
8	32.7	19.4	19.4	3.2	2	. 26	8
9	28.8	15.5	15.5	6.7	2	. 26	21
10	24.4	12.2	12.2	6.5	2	. 26	20
11	18.8	9.4	9.4	13.2	2	. 26	52
12	14.4	7.2	7.2	22.9	2	. 26	110

Note : Temperatures in deg C

Wind = velocity in meters/second

Haze scale : 0.5 = very polluted, 0.26 = normal

0.17 = very clear

Rain = rainfall in liters/sq.m./month

Table 2 Example of meteorological data

#### RESULTS

```
Nutriments, kg/kg of harvested spirulina :
   bicarbonate (initial medium and drainages included):
   bicarbonate (excluding initial medium) :
                 0.00
   carbonate =
   sugar :
             0.00
   liquid CO2 :
                 0.00
Water consumption
       (including medium, drainages, evaporation), 1/kg =
                                                             710
Total rainfall on area equal to tank area, 1/kg = 192
Drainages, average %/day = 3.35
Fuel consumption, kg/kg =
Surplus electricity (sold), kWh/kg =
                                        -3.8
Electricity consumption by lamps, kWh/kg =
Electricity consumption by agitation, kWh/kg =
                                                    3.8
Final concentration in spirulina, g/l =
Final salinity of medium, g/l = 17.4
Final basicity of medium, moles/1 = 0.20
Maximum pH (before days without carbon feed) = 10.32
Maximum tank temperature, °C = 38.2
Minimum tank temperature, °C = 4.4
Maximum CO2 concentration in internal air, vpm =
                                                     398
Minimum CO2 concentration in internal air, vpm =
                                                     302
Maximum level in tank, cm = 10.0
   PRODUCTIVITY, gram per day per m2 =
   PRODUCTION, kg per m^2 = 2.48
   COST PRICE (present value at day 1), $/kg = 16.86
```

Table 3 Example of results

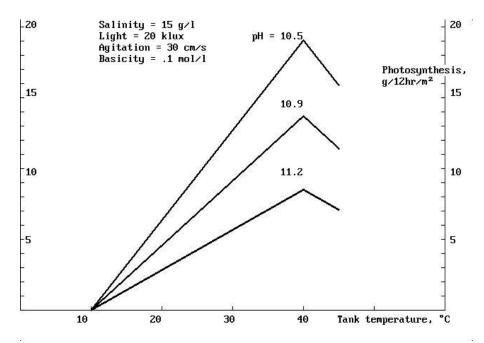


Fig. 1 Photosynthesis vs. temperature

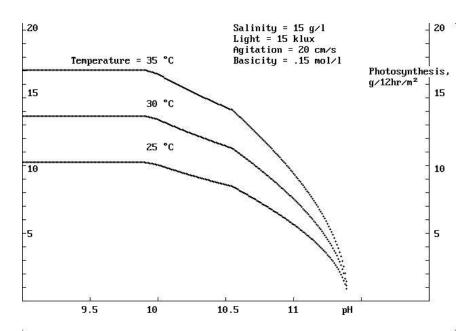


Fig. 2 Photosynthesis vs. pH

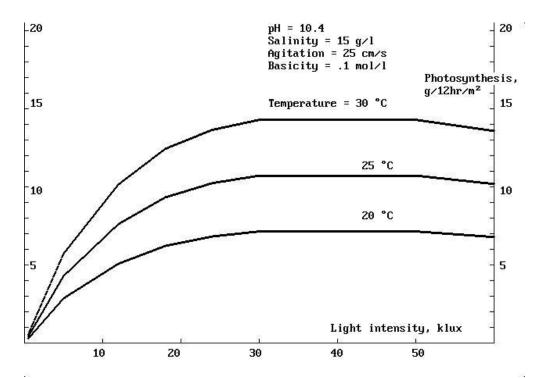


Fig.3 Photosynthesis vs. Light intensity

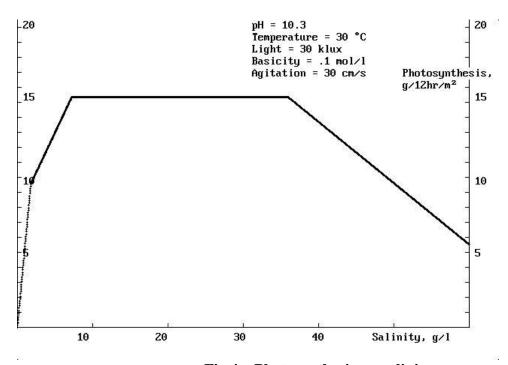


Fig.4 Photosynthesis vs. salinity

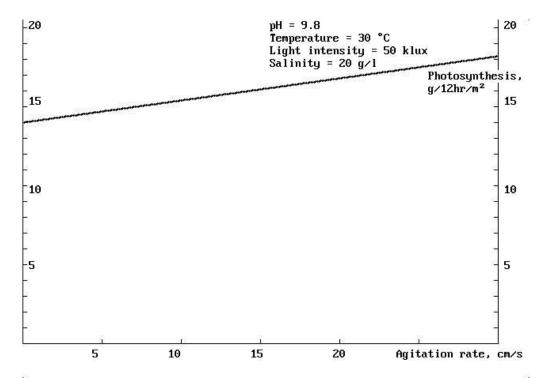


Fig. 5 Photosynthesis vs. stirring rate

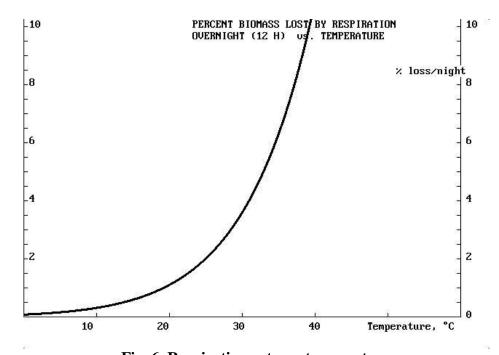


Fig. 6 Respiration rate vs. temperature

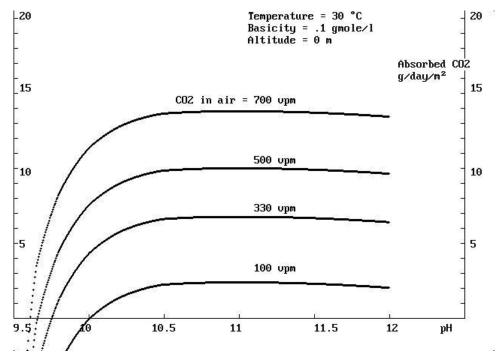


Fig. 7 CO2 absorption vs. pH

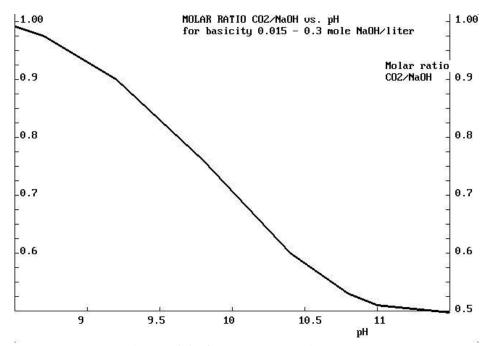


Fig. 8 CO2/base molar ratio vs. pH

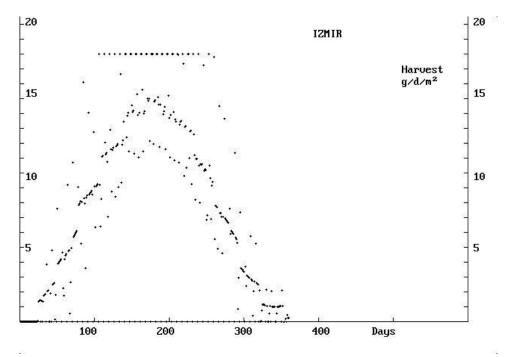


Fig. 9 Daily production

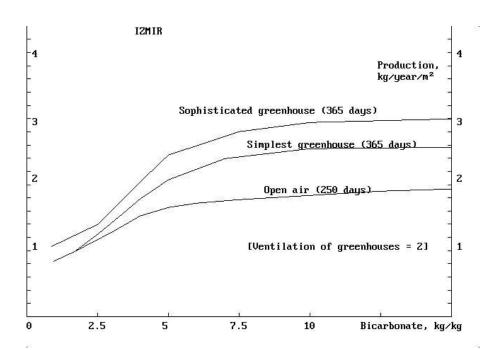


Fig. 10 Production vs. bicarbonate consumption

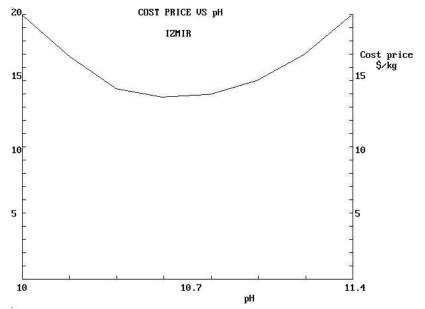


Fig. 11 Cost price vs. pH with bicarbonate (@ 0.8 \$/kg)

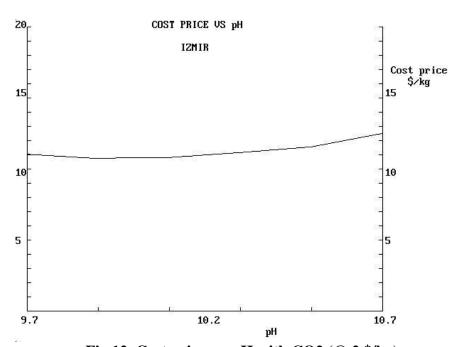


Fig.12 Cost price vs. pH with CO2 (@ 2  $\/$ kg)

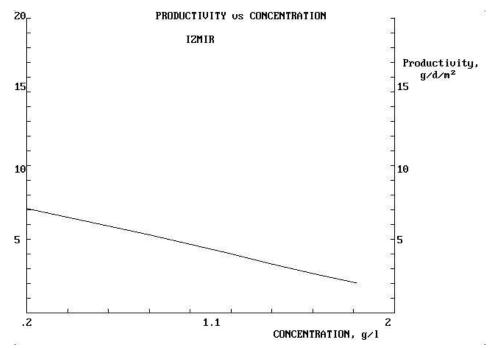


Fig. 13 Productivity vs. biomass concentration

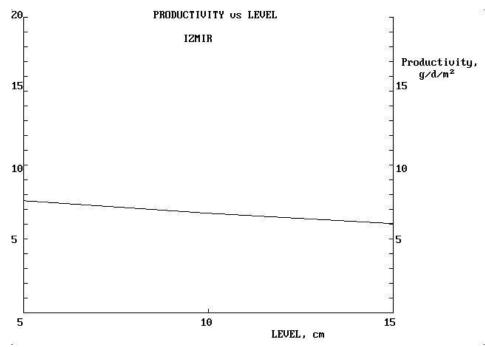


Fig. 14 Productivity vs. tank level

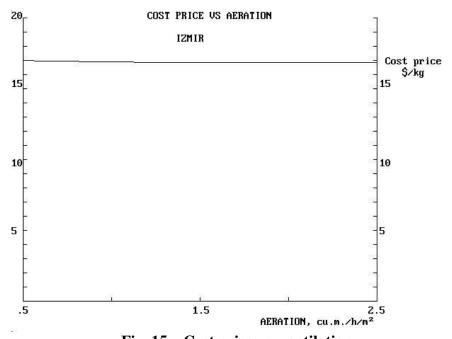


Fig. 15 Cost price vs. ventilation

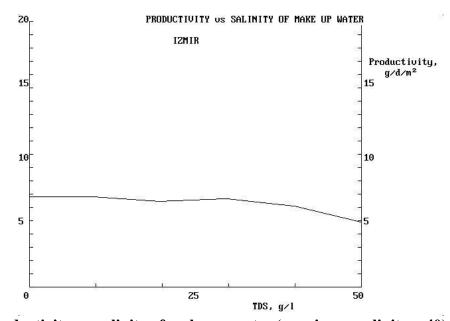


Fig. 16 Productivity vs. salinity of make-up water ( maximum salinity = 40)

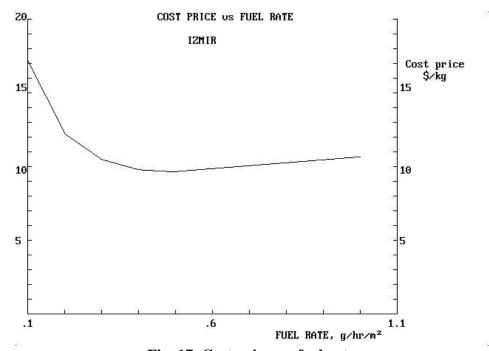


Fig. 17 Cost price vs. fuel rate (propane @ 1 % as sole carbon source and ventilation rate = 0.1 m/h)

## LEGENDS OF TABLES AND FIGURES

- Table 1 Example of data
- Table 2 Example of weather data
- Table 3 Example of results
- Fig.1 Photosynthesis vs. temperature
- Fig. 2 Photosynthesis vs. pH
- Fig. 3 Photosynthesis vs. light intensity
- Fig. 4 Photosynthesis vs. salinity
- Fig. 5 Photosynthesis vs. stirring rate
- Fig. 6 Respiration rate vs. temperature
- Fig. 7 CO2 absorption vs. pH

- Fig. 8 CO2/base vs. pH
- Fig. 9 Daily production
- Fig. 10 Productivity vs. bicarbonate consumption
- Fig. 11 Cost price vs. pH with bicarbonate (@ 0.8 \$/kg)
- Fig. 12 Cost price vs. pH with CO2 (@ 4 \$/kg)
- Fig. 13 Productivity vs. biomass concentration
- Fig. 14 Productivity vs. culture depth or level
- Fig. 15 Productivity vs. ventilation rate
- Fig. 16 Cost price vs. salinity (total disolved salts) of make-up water
- Fig. 17 Cost price vs. fuel rate with propane @ 1\$/kg as sole carbon source and ventilation rate = 0.1 m/hr

# **CULTIVO**

# **ARTESANAL**

# DE SPIRULINA

# (Resumen de la version francesa)

# 28/08/2005

# **ÍNDICE**

**PROLOGO** 

**ESTANQUES** MEDIO DE CULTIVO **COSECHA**  **FACTORES CLIMATICOS INOCULACION** 

COMO ALIMENTAR EL CULTIVO ATENCIONES DEL CULTIVO CONSERVACION

SECADO **CONSUMO** 

CONCENTRACION

**ANEXO** SALINIDAD **HUMEDAD** pН

**ALCALINIDAD** 

# **PROLOGO**

El presente no es un nuevo libro sobre la spirulina; hay excelentes libros para responder a las siguientes preguntas:

- ¿ qué es la spirulina (Arthrospira platensis) ?
- ¿ dónde vive naturalmente?
- ¿ cómo fué descubierta en los años 1960?
- ¿ cuál es su composición nutritiva?

- ¿ a qué normas de calidad debe responder?
- ¿ cómo se la puede producir industrialmente?
- ¿ porqué se le predice un futuro brillante?

Consultar por ejemplo: "Microalga Spirulina, Superalimento del Futuro", por Robert Henrikson, Ediciones Urano (1994).

El único objetivo de este manual resumido es de aportar mi experiencia práctica en el cultivo de la spirulina en pequeña escala a quienes así lo necesitan.

Si algunos términos técnicos les parecen difícil de comprender, ustedes pueden consultar un manual de química para alumnos de colegio que podrá aclararlos.

¡En práctica, cultivar spirulina no es más difícil que cultivar tomates!

Si Ud tiene acceso a Internet, pueden ver una buena descripcion de este proceso artesanal en <a href="http://www.spirulinasource.com">http://www.spirulinasource.com</a> ilustrado con muchas fotografias.

# **ESTANQUES**

La spirulina vive en agua a la vez salada y alcalina, contenida en un recipiente (o estanque) resistente a la corrosión; poco importa su forma, salvo los ángulos que deben ser redondeados para facilitar la agitación y limpieza de los rincones. Generalmente utilizamos estanques con bordes de 40 cm (el doble de la profundidad normal del cultivo).

Los estanques pueden tener una superficie de 1 m² - es lo que corresponde a la necesidad de spirulina de una persona - pero los de 5, 10, 20 hasta 40 m² son más económicos. Las dimensiones son sobretodo limitadas por la necesidad de agitar el estanque.

El fondo del estanque debe tener un hoyo y una ligera pendiente para facilitar su desaguë.

Es preferible tener dos estanques que uno sólo grande por razones prácticas (transvase de uno al otro para limpiarlo por ejemplo).

Un modo de realizar económicamente estos estanques utiliza plásticos de 0,5 mm de espesor (PVC, EVA), de calidad alimentaria de preferencia; los laterales son soportados por un muro de ladrillos o una

estructura de madera o tubos metálicos o PVC. Si hay termitas en la región, se recomienda colocar bajo el plástico una delgada capa de ceniza y una capa de arena seca.

El hormigón es un buen material para los estanques, pero necesita albaniles experimentados. La calidad del revoque es muy importante. Antes de agregar el medio de cultivo es recomendable pintar la superficie del estanque con dos manos de pintura común a la cal.

Un invernadero sobre los estanques ofrece muchas ventajas a condición de que pueda ser aireado y sombreado.

La agitación de los estanques se puede hacer a mano con escoba, una vez cada hora o dos horas (mas frecuente si el sol es fuerte). Si se dispone de electricidad se puede utilizar pequeñas bombas de acuario para agitar los estanques (una potencia media de 1 W/m² es suficiente).

Los estanques industriales son agitados con paletas, pero ésta es una técnica considerada como un poco difícil a emplear para los pequeños estanques artesanales que son los que aquí nos interesan.

# **FACTORES CLIMATICOS**

La temperatura del medio de cultivo es el factor climático de mayor importancia para la rapidez de crecimiento y la calidad de la spirulina. Por debajo de 20°C el crecimiento es prácticamente nulo, aunque muchas spirulinas no mueren incluso a 0°C. La temperatura óptima para el crecimiento es 37°C. Encima de 42°C, la spirulina está en grave peligro.

La iluminación es indispensable para el crecimiento de la spirulina (fotosíntesis), pero no se debe mantenerla 24 horas contínuas por dia. Durante la noche reacciones bioquímicas continuan produciendose en la spirulina como la síntesis de proteinas y la respiración. La respiración disminuye la masa de la spirulina (la "biomasa") sobretodo cuando la temperatura está elevada. Desde este punto de vista las noches frescas son buenas, pero la spirulina no puede soportar una fuerte iluminación al frío (debajo de 15°C). Aunque la iluminación es un factor esencial, el pleno sol no es ideal para la spirulina: una media sombra es preferible. Si el sol es la única fuente de calor para llegar a una buena temperatura, es un problema: por eso una temperatura ambiente elevada es preferible.

Un filamento individual de spirulina no puede soportar una exposición prolongada al sol: es destruido por fotolisis. De aquí la necesitad de agitar el cultivo.

La lluvia es benéfica para compensar la evaporación del agua, pero es necesario vigilar que no desborde el estanque.

El viento es también benéfico para la agitación de la superficie y para airear el cultivo, pero está el riesgo del aporte de polvo y hojas en el cultivo.

Notamos que la iluminación y el calentamiento artificiales pueden ser utilizados para hacer crecer la spirulina. Tubos de neón convienen para iluminar pero las lámparas ordinarias tienen la ventaja de calentar al mismo tiempo que iluminar.

# **MEDIO DE CULTIVO**

El agua utilizada para hacer el medio de cultivo debe ser limpia o filtrada para eliminar las algas contaminantes.

El agua potable es conveniente. Si contiene demasiado cloro, se debe aerear.

Si el agua es muy dura, provocará la formación de depósitos desagradables pero no peligrosos. La utilización de agua salobre puede ser interesante pero es necesario analizarla antes de utilizarla.

Algunas aguas contienen bastante o demasiado magnesio y/o hierro.

El agua de mar, muy rica en magnesio, puede ser utilizada pero con precauciones o tratamientos que no están incluidos en este documento.

El medio de cultivo puede obtenerse disolviendo los productos químicos siguientes en el agua:

	<u>g/litro</u>
Bicarbonato de sodio	8
Sal	5
Nitrato potásico (o salitre)	2
Sulfato dipotásico	1
Fosfato monoamónico	0,1
Sulfato de magnesio (MgSO4,7H2O)	0,2
Solución de hierro (10 g de Fe/l)	0,1
Cal (si el agua es muy poco dura)	0,02

Si se utiliza sal no refinada, no se necesita el sulfato de magnesio.

La solución de hierro se prepara disolviendo 50 g de sulfato de hierro (FeSO4, 7H2O) y 50 ml de ácido clorhídrico concentrado en un litro de agua. Se puede también utilizar una solución saturada de hierro (clavos) en vinagre con un poco de jugo de limón o carambola.

Este medio de cultivo se utiliza para iniciar nuevos cultivos o para completar el nivel de los estanques luego de vaciarlos parcialmente.

La composición arriba mencionada puede variar en amplias proporciones. Así, en lugar de los 8 g de bicarbonato, se puede utilizar una mezcla de 5 g de carbonato de sodio y 1 g de bicarbonato, obteniendo un pH de 10,4.

Ciertos iones pueden ser introducidos en cualquier concentración, aunque limitada por la salinidad total que no debe sobrepasar de 25 g/l. Se trata de los iones: sulfato, cloruro, nitrato y sodio.

Los iones fosfato, magnesio y calcio no pueden ser utilizados en concentraciones muy elevada sin provocar la formación de depósitos minerales y desequilibrios en la fórmula.

La concentración en potasio puede ser aumentada a voluntad, salvo que ella no supere 5 veces la concentración de sodio (se trata de concentraciones en peso). Esto permite utilizar la potasa extraida de la ceniza de madera, con la lejía como reemplazante del bicarbonato/carbonato de sodio (es necesario dejar la lejía expuesta al aire suficiente tiempo para que ella se carbonate hasta que su pH baje debajo de 10,8 antes de utilizarla como base del medio de cultivo).

En caso de necesidad (o situación de sobrevivencia) es posible reemplazar nitrato, fosfato y sulfato con la orina de personas o animales en buena salud y que no consuman medicamentos como antibióticos. La dosis es de 4 ml/l de medio.

El nivel normal de medio de cultivo en un estanque es alrededor de 20 cm, aunque es posible cultivar con 10 cm hasta 40 cm.

# **INOCULACION**

Escoger una simiente (cepa) de spirulina bien espiralada, con pocos o no filamentos rectos (al menos 50 % espiralada. Una simiente concentrada se obtiene fácilmente a partir de un cultivo en buena salud,

tomándola de la nata o rediluyendo con medio de cultivo una masa de spirulina fresca cosechada pero no exprimida. A la concentración máxima de 3 g de spirulina (contada en seco) por litro, la simiente se puede guardar y transportar durante una semana sin que ella se degrade, ésto a condición de que el recipiente sea medio lleno y ventilado al menos dos veces por día. Si la ventilación se hace con burbujas contínuas de aire, la concentración puede llegar a 10 g/l.

La inoculación consiste simplemente en mezclar la simiente con el medio de cultivo. Es recomendable mantener un nuevo cultivo inicialmente y en curso de crecimiento (dilución progresiva con medio de cultivo nuevo) con una concentración de spirulina alrededor de 0,3 g/l (bien verde).

Se puede esperar una tasa de crecimiento de 30 % por día si:

- la temperatura es correcta,
- el medio de cultivo es a base de bicarbonato,
- se aumenta la superficie del estanque manteniendo la profundidad del cultivo a bajo nivel (no superando 10 cm) y la concentración de spirulina alrededor de 0,3 g/l.

Cuando la superficie final del estanque es la deseada, aumentar el nivel y la concentración del cultivo hasta el nivel deseado y la concentración optima de 0,4 g/l antes de iniciar la cosecha.

# **COSECHA**

El mejor momento para la cosecha es temprano en la mañana, por muchas razones:

- la baja temperatura hace el trabajo más agradable,
- habrá más horas de sol para secar el producto,
- el porcentaje de proteínas está a su máximo en la mañana,
- la filtración está mas rápida.

La cosecha comprende esencialmente dos etapas:

- Filtración para obtener una biomasa a 10 % de materia seca (1 litro = 100 g de seco),
- Exprimido para eliminar el medio de cultivo residual y obtener la "spirulina fresca", lista a ser consumida o secada, conteniendo alrededor de 20 a 25 % de materia seca según las cepas y la salinidad del medio.

La filtración se efectua simplemente por gravedad a través de una malla sintética (polyester o polyamide) de aproximadamente 40  $\mu$  (0,04 mm) de apertura. El filtro puede ser un saco colocado encima del estanque para reciclar directamente lo filtrado. Antes de ser filtrado el cultivo debe pasar por un colador o un tamiz de malla 0,3 mm para eliminar los cuerpos extraños como insectos, trozos de vegetales, etc. Se puede hacer uso de un recipiente de bordes rectos, evitando mover el fondo donde se encuentran los depósitos. La filtración se puede acelerar moviendo o raspando suavemente la malla. Cuando la mayor parte del agua es colada, la spirulina (la biomasa) se junta formando como una "bola" gracias al movimiento de la malla. A veces, la bola no puede formarse bien o se pega.

El exprimido final se hace simplemente a presión: la biomasa se pone como una torta de unos centímetros de espesor en una malla (la misma que sirve para la filtración es buena, preferablemente doblada por una tela fuerte de algodon) entre dos placas ranuradas con pesos encima (piedras, ladrillos, bloquetas, etc.) o en una prensa o un lagar. Una presión de 0,2 kg/cm² durante un cuarto de hora es suficiente para eliminar el agua intersticial, aunque a veces la presión y/o el tiempo deben ser más largos para obtener una torta prensada suficiente firme. Detener la presión cuando el "jugo" se vuelve demasiado verde.

Este sistema es más adecuado que el lavado con agua para eliminar los restos del medio de cultivo sin destruir la spirulina, salvo que el exprimido sea muy difícil o imposible debido a una biomasa de calidad inferior (100 % de filamentos rectos por ejemplo). En este ultimo caso el lavado debe hacerse de preferencia con agua potable ligeramente salada y acidificada.

# **COMO ALIMENTAR EL CULTIVO**

El principio consiste en reemplazar, luego de cada cosecha, los elementos nutritivos tomados del medio de cultivo por la spirulina cosechada, a fin de mantener la fertilidad del medio de cultivo. En la práctica los nutrientes se pueden añadir regularmente cada día según la productividad media.

El mayor elemento nutritivo es el carbono, que el medio de cultivo absorbe espontáneamente del aire bajo la forma de anhídrido carbónico (CO2) cuando su pH es mayor de 10. Como el aire contiene muy poco de CO2, la absorción de éste corresponde a una productividad máxima (cuando el pH llega a 11) de 4 g de spirulina por día y por m² de

estanque. Es posible injectar CO2 suplementario para aumentar la productividad, bajo la forma de gas de fermentación alcohólica o de una botella de CO2 líquido: el gas burbujea en el medio de cultivo debajo de un plástico con soporte de madera (con superficie alrededor de 4 % de la del estanque) que lo retiene como una campana durante el tiempo que tarde en disolverse. Una dosis de CO2 conveniente es de 1 kg por kg de spirulina producida.

El azúcar puede reemplazar el CO2 como fuente de carbono (medio kg de azúcar = 1 kg de CO2).

Ademas del carbono la spirulina consume los nutrientes habituales en agricultura: N,P,K, S, Mg, Ca, Fe y oligoelementos. En la mayor parte de casos los oligoelementos y el calcio son aportados por el agua y las impurezas de los sales utilizados. En ciertos casos el agua contiene demasiado calcio, magnesio o hierro, lo cual produce depósitos minerales que a veces incomodan.

No utilizar los fertilizantes agrícolas granulados de disolución lenta ("slow release") que contienen muchas impurezas. Utilizar los fertilizantes solubles cristalizados vendidos para las soluciones nutritivas hortícolas.

En Chile el salitre potásico es la fuente preferida de nitrógeno pero en la mayoría de paises la úrea es la fuente de nitrógeno más económica. La úrea es excelente para la spirulina a condición de limitar su concentración en el medio a 50 mg/litro. La úrea en exceso puede transformarse en nitrato o en amoniaco. Si en el cultivo se siente un poco el olor de amoniaco no hay peligro pero si el olor es fuerte al menos una parte de la spirulina morirá.

He aquí una fórmula clásica de alimento por kilogramo de spirulina (seca) cosechada:

Urea	300 g
Fosfato monoamónico	50 g
Sulfato dipotásico	40 g
Sulfato de magnesio (SO4Mg,7 H2O)	40 g
Cal	10 g
Solución de hierro (10 g/l)	50 g

En caso de necesidad todos los nutrientes salvo el hierro pueden ser proporcionados por la orina de personas o animales en buena salud y que no consumen medicamentos como antibióticos. La dosis a utilizar es alrededor de 17 ml/g de spirulina cosechada.

# **ATENCIONES DEL CULTIVO**

Ademas de la cosecha y alimentación, un cultivo de spirulina requiere de algunas atenciones para mantenerse en buen estado de salud.

La agitación es necesaria pero no continuamente. Una vez por día, justo después de la cosecha, es bueno agitar el fondo del estanque para evitar la fermentación anaeróbica de los depósitos orgánicos. La agitación superficial debe realizarse una vez cada dos horas o más frecuentemente si hay gran iluminación.

Si la spirulina decanta al fondo del estanque (caso anormal pero que puede producirse por ejemplo luego de una brusca dilución por la lluvia) es evidente que es necesario agitarla frecuentemente para evitar que se asfixie.

La capacidad fotosintética de la spirulina es saturada por una luminosidad correspondiente a un tercio de pleno sol. Un sombreamiento es benéfico para la salud de la spirulina y además útil para reducir la evaporación del agua, la temperatura (< 40°C) o el pH (< 11). En la práctica es muy raro que la temperatura sea demasiado alta en estanques al aire libre, pero el pH puede subir muy alto si la alimentación en carbono es insuficiente.

El nivel de agua en el estanque debe mantenerse alrededor del nivel deseado. La evaporación puede compensarse agregando agua. Un exceso de lluvia puede ser rectificado vaciando una parte del medio para luego agregar los nutrientes contenidos en el volumen del medio arrojado.

Si se acumula mucho depósito al fondo del estanque, podemos reducirlo mediante bombeo o sifón del medio de cultivo cerca del fondo, allí donde encontramos el depósito en mayor cantidad. Luego agregar el medio de cultivo nuevo en cantidad igual al del volumen arrojado. Otro método, más radical, para sacar los depósitos consiste en transvasar el cultivo en otro estanque para limpiar el fondo.

En las grandes empresas industriales productoras de spirulina el contenido del medio de cultivo referido a cada nutriente, e incluso los oligoelementos, se determina por análisis químico, teniendo así la posibilidad de agregar la cantidad exacta de elementos que faltan. Este

método resulta demasiado costoso para pequeños cultivos; en estos lo adecuado es renovar parcialmente el medio de cultivo de vez en cuando (por ejemplo 10 % cada mes).

Para evitar la formación de grumos con la cepa Lonar es recomendable mantener el pH encima de 10,2 así como un buen aporte de nitrógeno bajo forma de úrea.

El cultivo es un ecosistema en el cual diversos organismos viven en simbíosis: bacterias adaptadas que se nutren de deshechos orgánicos y paramecias) zooplancton (como que se nutre de bacterias. transformandolas en nutrientes minerales y CO2 para la spirulina. Bacterias y zooplancton consumen además el oxígeno producido por la spirulina, lo cual es favorable para el crecimiento de la spirulina. Estos procesos biológicos son bastante lentos, de suerte que si el nivel del cultivo es bajo y/o si la productividad en spirulina es elevada, podría haber acumulación de deshechos resultando en alta turbiedad y dificultad de cosecha. Para mejorar tal medio de cultivo sucio, basta renovarlo parcialmente o bajar la productividad sombreando el estanque o dejando subir la concentración de spirulina; el mejoramiento se produce normalmente en una o dos semanas.

El cultivo puede ser colonizado por pequeños animales que viven a expensas de la spirulina, como larvas de moscas Ephydra o de mosquitos, rotiferas o amebas (normalmente no tóxicas). Según nuestra experiencia estas invasiones no producen otros efectos molestosos que una reducción de la productividad. Para eliminar estos animales fisicamente podemos utilizar un colador (para larvas) o para eliminarlos biológicamente podemos aumentar momentáneamente la salinidad, el pH o la temperatura del cultivo. El incremento de la temperatura hasta 42°C parece el más fácil a realizar (con un invernadero) y también muy eficaz. Frecuentemente estos predatores desaparecen ellos mismos al final de algunas semanas.

Un cultivo donde la salinidad o la concentración en spirulina son muy bajas puede ser invadido por una alga verde monocelular (comestible): la clorela; felizmente la clorela cae al fondo del estanque cuando la agitación es apagada, quedando en la oscuridad donde ella muere al cabo de unos días. Lo mismo ocurre con las diatomeas.

Algas azul-verdes tóxicas como Anabaena, Anabaenopsis arnoldii y Microcystis no viven en un cultivo de spirulina bien atendido, pero por seguridad es recomendable hacer verificar su ausencia con un microscopio por un microbiólogo una vez por año. Un cultivo de larvas de artemias en agua salada (30 g sal por litro) puede ser utilizado para

verificar la ausencia de algas tóxicas: agregar al cultivo de artemias un poco del cultivo de spirulina y observar el comportamiento de las larvas: si al cabo de seis horas o más ellas estan siempre llenas de vitalidad, no hay una concentración peligrosa de algas tóxicas. Podemos adquirir huevos de artemias en las tiendas de acuariofilia.

Normalmente las bacterias patógenas habituales no pueden sobrevivir en el medio de cultivo cuando su pH supera 9,5 lo que es el caso durante la producción. Sin embargo es recomendable hacer controles bacteriólogicos de la spirulina cosechada al menos una vez por año o en caso de epidemia (el vibrio del cólera puede sobrevivir hasta pH 11).

## CONSERVACION

Es cierto que la spirulina fresca (la biomasa prensada) es superior a toda otra forma de spirulina tanto del punto de vista organoléptico como por su valor nutritivo y de costo. Ella se conserva dos días en el refrigerador a 7°C o diez días a 1°C. Además se congela facilmente.

Para quienes no disponen de refrigerador ni congelador, el salado puede ser una solución. Se agrega 10 % de sal fina a la biomasa prensada, asegurando una conservación como de un mes, bajo una ligera capa de aceite. El salado modifica el producto: su consistencia se vuelve más fluída, su color más oscuro (la ficocianina azul es liberada) y el gusto se parece al de la pasta de anchoas.

El secado es el único modo de conservación comercial. Convenientemente embalada y almacenada la spirulina seca puede conservarse hasta cinco años; pero el secado es costoso y frecuentemente da al producto un gusto y olor que pueden ser juzgados desagradables por el consumidor.

# <u>SECADO</u>

En la industria la spirulina es casi siempre secada por atomización en aire a muy alta temperatura, durante un tiempo muy corto; este proceso da un producto de extrema fineza y poco densidad aparente. Este proceso es imposible de ser utilizado en pequeña escala. La liofilización es un proceso ideal para la calidad, incluso en pequeña escala, pero de costo tremendo.

El secado solar es frecuentemente utilizado por los pequeños productores, pero requiere de algunas precauciones. Si la exposición al sol directo es utilizada, que es la más rápida, debe ser de muy corta

duración sino la clorofila será destruida en la superficie y el producto aparecerá grisáceo o azulado.

Sea cual fuere la fuente de calor, la biomasa a secar debe ser puesta bajo la forma suficientemente delgada para secar antes de comenzar a fermentar. Dos fórmulas para ello: la pasta puede ser esparcida en capa delgada sobre un film plástico o puesto como tallarines en cilindros de pequeño diámetro ("spaghetti" de 2 mm de diámetro) sobre un plato perforado. En la primera fórmula el aire caliente pasa horizontalmente sobre el film mientras en la segunda éste sube verticalmente a través del plato perforado. La extrusión es teóricamente y prácticamente mejor si el diámetro de los tallarines frescos no sobrepasa 2 mm, pero al mismo tiempo hace falta que los cilindros tengan bastante resistencia mecánica para guardar su forma durante el secado y no "derretirse"; ésto es lo que impide el uso de este proceso de secado cuando la biomasa prensada es de calidad inferior y no es bastante firme. De todas formas un buen flujo de aire es el factor mas importante para evitar accidentes de secado.

Durante el secado y después la spirulina debe ser protegida del polvo y de los insectos y no debe ser tocada por la mano.

La temperatura de secado debe ser limitada a 65°C y el tiempo de secado a 6 horas (aunque una vez secada la spirulina puede quedar más tiempo al calor en el secador sin problema). Si se seca a baja temperatura, es preferible terminar por 15 minutos a 65 °C para conseguir un buen grado de esterilización y también bajar la humedad del producto a 5 % de agua.

Si la fermentación ha comenzado durante el secado, la podemos detectar por su olor durante y después del secado.

Las escamas o tallerines secos son generalmente convertidos en polvo por molido para aumentar su densidad aparente y facilitar su almacenamiento.

# **CONSUMO**

Las personas que dicen no poder soportar el gusto ni el olor de la spirulina han estado expuestas, ciertamente un día, a un producto seco de calidad mediocre. La spirulina fresca y de buena calidad es neutra, tal que puede reemplazar la mantequilla sobre las tostadas y puede servir para enriquecer prácticamente cualquier alimento; deliciosas bebidas heladas pueden ser preparadas mezclando la spirulina, especialmente fresca, con jugo de frutas. La spirulina fresca es una pasta fácil a diluir, mezclar o esparcir.

Hay literalmente miles de recetas posibles para utilizar la spirulina fresca, congelada o seca, cruda o cocida.

Notamos que sobre 70°C en presencia de agua el bello color verde de la spirulina (clorofila) a veces se vuelve marrón.

# **ANEXO**

# COMPARACION DE MUESTRAS DE SPIRULINA

Los análisis principales necesarios para juzgar la calidad de una muestra de spirulina (contenido en proteínas, hierro, ácido gamalinolénico, y análisis microbiológico) necesitan realizarse en un laboratorio, pero algunas pruebas muy simples pueden ser realizadas por el mismo productor, comparando muestras entre ellas. Una muestra de buena calidad puede servir como referencia.

El examen del color, olor y gusto es revelador de diferencias importantes. El color verde debe tender más hacia el azul que hacia el amarillo.

Para hacer el examen del pH de una spirulina seca, mezclar 4 gramos de polvo en 100 ml de agua y medir el pH al cabo de dos minutos y de 24 horas (agitar de tiempo en tiempo): el pH inicial debe normalmente estar próximo de 8 para descender luego a 6 o menos, pero ciertos productos comerciales están largamente fuera de estas cifras (generalmente pH superiores).

Luego de la prueba precedente podemos muy fácilmente obtener una medida comparativa del contenido en ficocianina (pigmento azul que constituye un cuarto de las proteínas totales). Es suficiente poner una gota de la solución sobre un papel filtro (filtro a café por ejemplo) y dejar secar la mancha: la intensidad del color azul es una medida del contenido en pigmento. Si el pigmento no "sale" bien, es posible que sea debido a un secado de la spirulina a baja temperatura; recomenzar la prueba luego de haber calentado la muestra seca a 70°C por un minuto.

El contenido en carotenoides (el betacaroteno constituye entre 40 a 50 % de los carotenoides totales) puede ser evaluado mezclando una muestra de spirulina seca en polvo con dos veces su peso de acetona o alcohol de 90° dentro de un frasco cerrado y agitado. Al cabo de un cuarto de hora, tomar una gota de la solución decantada y ponerla sobre un papel filtro para examinar el color de la mancha formada. La intensidad del color marrón-amarillo es proporcional al contenido en carotenoides. Notamos que el color de la mancha no se guarda más que unas horas y que en las muestras de spirulinas antiguas almacenadas sin precaución el contenido resulta prácticamente nulo.

# MEDIDA DE LA CONCENTRACION EN SPIRULINA

## AL DISCO DE SECCHI

El "disco de Secchi" es un instrumento constituido de una barra de 30 cm de largo, graduada en centímetros (o concentracion despues de calibrar), teniendo en su extremidad inferior un disco blanco. Permite una medida aproximada de la concentración en spirulina.

Antes de medir, agitar para homogeneizar, luego dejar decantar los depósitos algunos minutos y anotar la profundidad en centímetros, allí justo donde es imposible distinguir el disco.

## MEDIDA DE LA SALINIDAD DEL MEDIO DE CULTIVO

Ella se hace con la ayuda de un densímetro para densidades superiores a 1 (urinómetro por ejemplo) y se aplica la corrección de temperatura siguiente:

$$D20 = DT + 0,000325 \times (T - 20)$$

donde:

D20 = Densidad a 20 °C

DT = Densidad a T°C

ambas expresadas en g/ml o kg/l.

A partir de la densidad a 20 °C, calculamos la salinidad total (SAL, en g/l) del medio de cultivo por las fórmulas:

Si D > 1,0076: SAL =  $1250 \times (D20 - 1,0076) + 10$ 

Sino:  $SAL = 1041 \times (D20 - 0.998)$ 

# MEDIDA DE LA ALCALINIDAD DEL MEDIO DE CULTIVO

La prueba se hace por neutralización con ácido clorhídrico normal (ácido concentrado del comercio dluído diez veces); el punto final se medirá a pH = 4.

La alcalinidad (= moléculas de base fuerte por litro) es la relación entre el volumen de ácido utilizado y el volumen de una muestra del medio.

# MEDIDA DEL pH DEL MEDIO DE CULTIVO

El pHmetro debe ser ajustado una vez por semana. Soluciones muestras pueden ser compradas, o preparadas como sigue (pH aproximativos a 20°C):

 $pH = 9.7 \ a \ 9.9$  (según el contenido del aire en CO2): disolver 3,3 g de carbonato de sodio + 3,3 g de bicarbonato de sodio en un litro de agua; mantener la solución en contacto con la atmósfera y agregar regularmente el agua para compensar la evaporación.

pH = 7.2: disolver 5,8 g de fosfato diamónico + 11 g de bicarbonato de sodio en un litro de agua y mantenerlo en una botella cerrada.

pH = 2.8: vinagre ordinario a 6° (densidad 1,01)

Correción de temperatura sobre el pH: pH a 20 °C = pH a T°C + 0,00625 x (T - 20)

## MEDIDA DE LA HUMEDAD EN LA SPIRULINA SECA

Colocar en un recipiente transparente y hermético (como un Tupperware) aproximadamente el mismo volumen de muestra de spirulina y de aire junto con un termo-higrómetro que se pueda leer de afuera sin abrir. Calentar o resfriar para que la temperatura sea alrededor de 25°C. Esperar el equilibrio de temperatura y de humedad.

Hay una correspondencia entre el % de humedad relativa (HR) en el aire y el % de agua en la spirulina, asi :

25 % HR = 5 % agua 32 % HR = 6 43 % HR = 8 49 % HR = 9

Para que se conserve bien la spirulina seca, su % de agua debe estar menos que 9 % (es la norma).

\*